

Міністерство охорони здоров'я України
Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Шклярський Назарій Володимирович

УДК: 616.61-06 :[616.127:577.175.5+616.24-002]-092.9

**ПАТОГЕНЕТИЧНІ МЕХАНІЗМИ ПОШКОДЖЕННЯ НИРОК ЗА УМОВ
РОЗВИТКУ АДРЕНАЛІНОВОГО ПОШКОДЖЕННЯ МІОКАРДА ТА
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПНЕВМОНІЇ ТА ЇХ ФАРМАКОКОРЕКЦІЯ**

222 – медицина

22 - охорона здоров'я

Подається на здобуття ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ Н.В. Шклярський

(підпис, ініціали та прізвище здобувача)

Науковий керівник: Регеда Михайло Степанович, доктор медичних наук,
професор, Заслужений працівник освіти України

АНОТАЦІЯ

Шклярський Н.В. «Патогенетичні механізми пошкодження нирок за умов розвитку адреналінового пошкодження міокарда та експериментальної пневмонії та їх фармакокорекція». - 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, 2025.

Дисертаційна робота присвячена з'ясування особливостей порушень показників цитокінового статусу, імунної, прооксидантно-антиоксидантної системи та системи оксиду азоту, протеїназно-інгібіторної системи та їх участь в механізмах пошкодження нирок за умов розвитку адреналінового пошкодження міокарда та експериментальної пневмонії і виявлення ефективності корвітину з метою корекції порушених імунних і метаболічних процесів.

Для цього було проведено дослідження 128 морських свинок (самців), маса яких становила 180-210 г. Піддослідні тварини утримувались у стандартних умовах віварію Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Відповідно до мети і завдань дослідження дисертаційної роботи морських свинок розподіляли на 14 груп: перша – інтактні тварини – контроль (10 морських свинок); друга, третя, четверта і п'ята (дослідна) групи – склалися з 36 тварин (по 9 морських свинок у кожній) – тварини з адреналіновим пошкодженням міокарда (АПМ) відповідно на 1-у, 3-ю, 6-у і 14-у доби експерименту; шоста, сьома, восьма і дев'ята (дослідна) групи – по 36 тварин – тварини з експериментальною пневмонією (ЕП) відповідно на 1-у, 3-ю, 6-у і 14-у доби експерименту; десята, одинадцята, дванадцята, тринадцята (дослідна) групи - (36 тварин) морські свинки з ЕП поєднаного з АПМ відповідно на 1-у, 3-ю, 6-у і 14-у доби експерименту (до лікування); чотирнадцята група (10 тварин) – морські свинки з ЕП і АПМ після лікування корвітином, який вводили

впродовж 9 днів з 6-ої по 14-у доби експерименту внутрішньоочеревинно у дозі 40 мг/кг 1 раз на добу.

Експериментальну пневмонію (ЕП) викликали за методом В.Н. Шляпнікова, Т.Л. Солодова шляхом інтраназального зараження тварин 0,5 мл матеріалом, що містив *Staphylococcus aureus*.

Гостре адреналінове пошкодження міокарда моделювали за методом О.О. Маркової шляхом одноразового внутрішньом'язово введення 0,18% розчину адреналіну гідротартрату («Дарниця», Україна) з розрахунком 0,5 мг/кг.

Адреналінове пошкодження міокарда асоційоване з експериментальною пневмонією (1-а, 3-я, 6-а, 14-а доби) супроводжується поступовим підвищенням вмісту В-лімфоцитів і циркулюючих імунних комплексів відповідно на 52,4% ($p<0,05$), 60,9% ($p<0,05$), 68,7% ($p<0,05$), 73,7% ($p<0,05$) і 35,5% ($p<0,05$), 35,3% ($p<0,05$), 39,4% ($p<0,05$), 51,6% ($p<0,05$) та зниженням рівня Т-лімфоцитів у крові відповідно на 32,3% ($p<0,05$), 33,4% ($p<0,05$), 38,4% ($p<0,05$), 47,9% ($p<0,05$) проти контрольної групи тварин, що свідчило про порушення імунного гомеостазу, який проявлявся стимуляцією гуморального на тлі пригнічення клітинного імунітету.

Застосування корвітину внутрішньоочеревинно у дозі 40 мг/кг маси тіла впродовж 9 днів (з 6-ої по 14-у доби експерименту) спричиняло імунокоригувальний вплив, що виявлявся зростанням вмісту Т-лімфоцитів на 62,6% ($p<0,05$) та зниженням рівня В-лімфоцитів і циркулюючих імунних комплексів у крові відповідно на 35,5% ($p<0,05$) і 31,5% ($p<0,05$) в порівнянні з групою тварин з даними моделями хвороб (на 14-у добу), які не піддавалися дії даного препарату.

Маніфестація експериментальної пневмонії поєднаної з адреналіновим пошкодженням міокарда (1-а, 3-я, 6-а, 14-а доби) зумовлює поетапне зростання вмісту фактора некрозу пухлин-альфа (ФНП- α) і інтерлейкіну-6 (IL-6) в крові відповідно на 50,0% ($p<0,05$), 56,5% ($p<0,05$), 60,8% ($p<0,05$), 63,0% ($p<0,05$) і 66,6% ($p<0,05$), 81,8% ($p<0,05$), 83,3% ($p<0,05$), 80,3% ($p<0,05$) в умовах зниження рівня інтерлейкіну-10 (IL-10) відповідно на 26,8% ($p<0,05$), 33,3%

($p < 0,05$), 43,0% ($p < 0,05$), 52,6% ($p < 0,05$) відносно інтактної групи тварин, що вказувало на виражений дисбаланс між співвідношенням про- і протизапальних цитокінів та їх цитокіноопосередкований вплив на механізми пошкодження нирок.

Введення корвітину призводило (на 14-у добу експерименту) до зниження вмісту ФНП-а і IL-6 відповідно на 32,0% ($p < 0,05$) і 34,4% ($p < 0,05$) та підвищення рівня IL-10 в крові на 70,4% ($p < 0,05$) в порівнянні з групою тварин з ЕП і АПМ на 14-у добу експерименту до лікування, що свідчило про його цитокінокоригуючу дію за умов формування даних моделей хвороб.

На усіх періодах (1-а, 3-я, 6-а, 14-а доби) формування експериментальної пневмонії і адреналінового пошкодження міокарда відбувається послідовне зростання вмісту дієнових кон'югатів (ДК) та малонового діальдегіду (МДА) відповідно на 62,5% ($p < 0,05$), 71,5% ($p < 0,05$), 79,5% ($p < 0,05$), 82,9% ($p < 0,05$) та 55,5% ($p < 0,05$), 62,1% ($p < 0,05$), 72,7% ($p < 0,05$), 85,7% ($p < 0,05$) та помітне зниження активності супероксиддисмутази (СОД) і каталази (КТ) в нирках відповідно на 25,2% ($p < 0,05$), 27,2% ($p < 0,05$), 30,6% ($p < 0,05$), 37,7% ($p < 0,05$) і 31,2% ($p < 0,05$), 34,7% ($p < 0,05$), 40,3% ($p < 0,05$), 45,5% ($p < 0,05$) проти першої групи тварин, що вказувало на поетапне підвищення процесів ліпопероксидації на тлі пригнічення активності антиоксидантного захисту з розвитком оксидантного стресу, який домінував на 14-у добу експерименту та його важливу роль в механізмах пошкодження нирок.

Використання корвітину (на 14-у добу експерименту) порівняно з показниками групи тварин з експериментальною пневмонією і адреналіновим пошкодженням міокарда де не було введення цього препарату спричиняло антиоксидантний вплив, що проявлявся зниженням рівня ДК і МДА відповідно на 41,6% ($p < 0,05$) і 40,1% ($p < 0,05$) та підвищенням активності СОД і КТ в нирках відповідно на 39,6% ($p < 0,05$) і 68,3% ($p < 0,05$).

Розвиток експериментальної пневмонії поєднаної з адреналіновим пошкодженням міокарда (1-а, 3-я, 6-а, 14-а доби) зумовлювало підвищення вмісту азоальбуміну, азоказеїну, азоколагену в нирках відповідно на 69,8%

($p < 0,05$), 74,3% ($p < 0,05$), 82,4% ($p < 0,05$), 87,8% ($p < 0,05$), 82,1% ($p < 0,05$), 89,0% ($p < 0,05$), 91,7% ($p < 0,05$), 94,5% ($p < 0,05$), 100,0% ($p < 0,05$), 105,2% ($p < 0,05$), 110,5% ($p < 0,05$), 115,7% ($p < 0,05$) на тлі зниження рівня альфа1-інгібітора протеаз (альфа1-ІП) і альфа2 – макроглобулінів (альфа2-М) відповідно на 41,9% ($p < 0,05$), 43,3% ($p < 0,05$), 46,4% ($p < 0,05$), 47,2% ($p < 0,05$) і 36,4% ($p < 0,05$), 44,7% ($p < 0,05$), 45,8% ($p < 0,05$), 46,8% ($p < 0,05$) в порівнянні з контрольною групою тварин, що свідчило про послідовне посилення протеолітичних процесів на тлі пригнічення антипротеазного потенціалу та розвиток дисбалансу протеїназо-інгібіторної системи, що відіграє важливу роль в механізмах пошкодження нирок.

Уведення корвітину впродовж 9 днів з 6-ої по 14-у доби розвитку ЕП і АПМ викликало зниження рівня азоальбуміну, азоказеїну, азоколагену в нирках відповідно на 37,4% ($p < 0,05$), 21,9% ($p < 0,05$), 34,1% ($p < 0,05$) та підвищення вмісту альфа1-ІП і альфа2-М відповідно на 24,5% ($p < 0,05$), 72,5% ($p < 0,05$) порівняно з групою тварин з цими експериментальними моделями хвороб, які не піддавалися дії даного препарату, що давало підставу стверджувати про його коригуючий вплив на порушені показники протеїназо-інгібіторної системи в нирках.

Встановлено, що за умов розвитку коморбідної патології (ЕП і АПМ) на усіх етапах нашого дослідження (1-у, 3-ю, 6-у і 14-у доба) спостерігаються прогресуючі зміни, а саме зростання вмісту стабільних метаболітів оксиду азоту (NO) і сумарної активності синтаз оксиду азоту (NOS) в нирках відповідно на 71,4% ($p < 0,05$), 80,5% ($p < 0,05$), 85,7% ($p < 0,05$), 90,4% ($p < 0,05$) і 33,3% ($p < 0,05$), 50,0% ($p < 0,05$), 41,6% ($p < 0,05$), 58,3 ($p < 0,05$) на тлі вираженого зниження рівня L-аргініну відповідно на 17,5% ($p < 0,05$), 27,5% ($p < 0,05$), 32,5% ($p < 0,05$), 35,0% ($p < 0,05$) проти контрольної групи тварин.

Одержані нами результати досліджень вказують на виражені порушення показників системи оксиду азоту в нирках на усіх етапах формування ЕП асоційованої з АПМ, що відіграють важливу роль в механізмах пошкодження нирок.

Застосування корвітину тваринам з ЕП і АПМ зумовлювало коригуючий вплив на порушені показники системи оксиду азоту. А саме було виявлено (на 14-у добу експерименту) зниження вмісту стабільних метаболітів NO і сумарної активності NOS в нирках відповідно на 22,5% ($p<0,05$) і 26,3% ($p<0,05$) та підвищення рівня L-аргініну на 45,4% ($p<0,05$) відносно групи тварин з даними моделями хвороб, яким не вводили цей лікарський середник.

Наукова новизна отриманих результатів. Уперше доведено роль порушень процесів протеолізу, ліпопероксидації, антипротеазного потенціалу, антиоксидантного захисту, показників системи оксиду азоту, гуморального і клітинного імунітету, цитокінового статусу в механізмах пошкодження нирок за умов розвитку експериментальної пневмонії асоційованої з адреналіновим пошкодженням міокарда.

Уперше виявлено, що розвиток запального процесу в легенях, поєднаний з адреналіновим пошкодженням міокарда (1-а, 3-я, 6-а і 14-а доби) спричиняє послідовне зростання протеолітичних процесів на тлі пригнічення антипротеазного потенціалу в нирках з перевагою на 6-у і 14-у доби експерименту.

Уперше встановлено, що на усіх етапах розвитку експериментальної пневмонії асоційованої з адреналіновим пошкодженням міокарда супроводжується активізацією процесів ліпопероксидації на тлі суттєвого зниження показників антиоксидантного захисту в нирках з домінуванням на 6-у і 14-у доби експерименту.

Уперше показано, що маніфестація експериментальної пневмонії і адреналінового пошкодження міокарда зумовлює помітне зростання вмісту стабільних метаболітів оксиду азоту та сумарної активності синтаз оксиду азоту в умовах зниження вмісту L-аргініну в нирках з особливою перевагою на 14-у добу експерименту.

Уперше встановлено дисбаланс між прозапальними та протизапальними цитокінами в крові за умов формування коморбідної патології – експериментальної пневмонії і адреналінового пошкодження міокарда.

Уперше показано, що за умов розвитку експериментальної пневмонії і адреналінового пошкодження міокарда відбувається суттєве пригнічення клітинного та стимуляція гуморального імунітету з домінуванням на 14-у добу експерименту.

Уперше доведена коригуюча дія корвітину на порушені показники метаболічних і імунних процесів за умов формування експериментальної пневмонії поєднаної з адреналіновим пошкодженням міокарда.

Практичне значення отриманих результатів. Одержані результати біохімічних і імунних досліджень розширюють та поглиблюють існуючі знання з механізмів пошкодження нирок за умов розвитку експериментальної пневмонії і адреналінового пошкодження міокарда і можуть надалі застосовуватися в науково-дослідній і педагогічній роботі.

Виявлений антиоксидантний та імунокоригуючий вплив корвітину вказує на перспективність та доцільність його подальшого вивчення, як в експерименті так і в клініці з метою корекції метаболічних і імунних порушень за умов формування експериментальної пневмонії і адреналінового пошкодження міокарда.

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, Буковинського державного медичного університету, кафедрі анатомії, фізіології та патології Львівського медичного університету, що підтверджено актами впровадження.

Ключові слова: експериментальна пневмонія, адреналінове пошкодження міокарда, цитокіни, перекисне окиснення ліпідів, імунна система, протеїназно-інгібіторна система, система оксиду азоту, корвітин.

Список публікацій здобувача за темою дисертації.

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Регеда М.С., **Шклярський Н.В.** Роль цитокінів у патогенезі розвитку експериментальної пневмонії і адреналінового пошкодження міокарда. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2023. №3 (73). С. 155-161. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo10418137>. (Здобувачем самостійно виконано дослідження, статистично опрацьовано отримані результати, написано текст та сформульовано висновки).

2. Регеда М.С., **Шклярський Н.В.** Значення порушень прооксидантно-антиоксидантних процесів у патогенезі розвитку експериментальної пневмонії та адреналінового пошкодження міокарда. *Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія*. 2024. №2 (100). С. 58-64. (Здобувачем самостійно виконано дослідження, статистично опрацьовано отримані результати, написано текст та сформульовано висновки).

3. Регеда М.С., **Шклярський Н.В.** Патогенетичні особливості змін імунної системи в динаміці розвитку експериментальної пневмонії і адреналінового пошкодження міокарда. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2024. №1 (75). С. 123-127. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.10888619> (Здобувачем самостійно виконано дослідження, статистично опрацьовано отримані результати, написано текст та сформульовано висновки).

4. Regeda M.S., **Shklyarskyi N.V.** The effect of corvitin on the impaired indicators of the proteinase-inhibitory system in the kidneys under the conditions of the development of experimental pneumonia and adrenaline damage to the myocardium. *Journal of Education, Health and Sport*. 2024;70:56502. <https://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2024.70.56502> (Здобувачем самостійно виконано дослідження, статистично опрацьовано отримані результати, написано текст та сформульовано висновки).

5. Regeda M.S., **Shklyarskyi N.V.** The effect of corvitin on the indicators of the nitric oxide system in the kidneys under the conditions of the development of experimental pneumonia and adrenaline damage to the myocardium. *Journal of*

Education, Health and Sport. 2024;68:56501. <https://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2024.68.56501> (Здобувачем самостійно виконано дослідження, статистично опрацьовано отримані результати, написано текст та сформульовано висновки).

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

6. Регеда М.С., **Шклярський Н.В.** Активність каталази в нирках за умов розвитку експериментальної пневмонії та адреналінового пошкодження міокарда. *Матеріали IX Національного Конгресу патофізіологів України з міжнародною участю «Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України» присвячений 100 -річчю Української патологічної фізіології 19-21 вересня 2024 року.* Івано-Франківськ. 2024. С. 217-218. (Здобувачем самостійно виконано дослідження, статистично опрацьовано отримані результати, написано текст та сформульовано висновки).

7. **Шклярський Н.В.** Роль циркулюючих імунних комплексів у патогенезі розвитку експериментальної пневмонії та адреналінового пошкодження міокарда. *Матеріали XIV Всеукраїнської науково-практичної конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» 23-25 жовтня 2024 року.* Тернопіль. 2024. С. 67-68.

8. Регеда М.С., **Шклярський Н.В.** Особливості змін активності супероксиддисмутази в нирках в динаміці розвитку експериментальної пневмонії. *Бюлетень XXIII читань ім. В.В. Підвисоцького 16-17- травня 2024 року.* Одеса. 2024. С. 114-115. (Здобувачем самостійно виконано дослідження, статистично опрацьовано отримані результати, написано текст та сформульовано висновки).

SUMMARY

Shklyarskyi N.V. " Pathogenetic mechanisms of kidney damage under the conditions of the development of adrenaline damage to the myocardium and experimental pneumonia and their pharmacocorrection" - Qualifying scientific work

on manuscript rights.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in specialty 222 - Medicine (22 - Health Care). - Lviv National Medical University named after Danylo Halytskyi, Ministry of Health of Ukraine, Lviv, 2025.

The dissertation is devoted to clarifying the features of violations of indicators of cytokine status, immune, pro-oxidant-antioxidant system and nitric oxide system, proteinase-inhibitory system and their participation in the mechanisms of kidney damage under the conditions of the development of adrenaline damage to the myocardium and experimental pneumonia and to identify the effectiveness of corvutin for the purpose of correction disturbed immune and metabolic processes.

For this, a study was conducted of 128 guinea pigs (males), whose weight was 180-210 g. Experimental animals were kept in standard conditions of the vivarium of Danylo Halytsky Lviv National Medical University.

According to the purpose and objectives of the dissertation research, guinea pigs were divided into 14 groups: the first - intact animals - control (10 guinea pigs); the second, third, fourth and fifth (experimental) groups - consisted of 36 animals (9 guinea pigs each) - animals with epinephrine damage to the myocardium (APM), respectively, on the 1st, 3rd, 6th and 14 - during the experiment; the sixth, seventh, eighth and ninth (experimental) groups - 36 animals each - animals with experimental pneumonia (EP) on the 1st, 3rd, 6th and 14th days of the experiment, respectively; the tenth, eleventh, twelfth, thirteenth (experimental) groups - (36 animals) guinea pigs with EP combined with APM, respectively on the 1st, 3rd, 6th and 14th days of the experiment (before treatment); the fourteenth group (10 animals) - guinea pigs with EP and APM after treatment with corvutin, which was administered intraperitoneally for 9 days from the 6th to the 14th day of the experiment at a dose of 40 mg/kg once a day.

Experimental pneumonia (EP) was induced according to the method of V.N. Shlyapnikov, T.L. Solodov by intranasal infection of animals with 0,5 ml of material containing *Staphylococcus aureus*.

Acute epinephrine myocardial damage was modeled according to the method of O.O. Markova by a single intramuscular injection of 0,18% solution of adrenaline

hydrotartrate ("Darnitsa", Ukraine) at a dose of 0,5 mg/kg.

Adrenaline myocardial damage associated with experimental pneumonia (1st, 3rd, 6th, 14th day) is accompanied by a gradual increase in the content of B-lymphocytes and circulating immune complexes by 52,4% ($p<0,05$), 60,9% ($p<0,05$), 68,7% ($p<0,05$), 73,7% ($p<0,05$) and 35,5% ($p<0,05$), 35,3% ($p<0,05$), 39,4% ($p<0,05$), 51,6% ($p<0,05$) and a decrease in the level of T-lymphocytes in the blood by 32,3% ($p<0,05$), 33,4% ($p<0,05$), 38,4% ($p<0,05$), 47,9%, respectively. ($p<0,05$) against the control group of animals, which indicated a violation of immune homeostasis, which was manifested by stimulation of humoral immunity against the background of suppression of cellular immunity.

The use of corvitin intraperitoneally at a dose of 40 mg/kg of body weight for 9 days (from the 6th to the 14th day of the experiment) caused an immunocorrective effect, which was manifested by an increase in the content of T-lymphocytes by 62,6% ($p<0,05$) and a decrease in the level of B-lymphocytes and circulating immune complexes in the blood by 35,5% ($p<0,05$) and 31,5% ($p<0,05$), respectively, compared to the group of animals with these disease models (on the 14th day) that were not exposed to this drug.

The manifestation of experimental pneumonia combined with adrenaline myocardial damage (1st, 3rd, 6th, 14th day) causes a gradual increase in the content of tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6) in the blood by 50.0% ($p<0.05$), 56.5% ($p<0.05$), 60.8% ($p<0.05$), 63.0% ($p<0.05$) and 66.6% ($p<0.05$), 81.8% ($p<0.05$), 83.3% ($p<0.05$), 80.3% ($p<0.05$) in conditions of a decrease in the level of interleukin-10 (IL-10) by 26.8% ($p<0.05$), 33.3% ($p<0.05$), respectively. 43.0% ($p<0.05$), 52.6% ($p<0.05$) relative to the intact group of animals, which indicated a pronounced imbalance between the ratio of pro- and anti-inflammatory cytokines and their cytokine-mediated effect on the mechanisms of kidney damage.

The administration of corvitin led (on the 14th day of the experiment) to a decrease in the content of TNF- α and IL-6 by 32,0% ($p<0,05$) and 34,4% ($p<0,05$), respectively, and an increase in the level of IL-10 in the blood by 70,4% ($p<0,05$) compared to the group of animals with EP and APM on the 14th day of the experiment

before treatment, which indicated its cytokine-correcting effect under the conditions of formation of these disease models.

At all periods (1st, 3rd, 6th, 14th day) of the formation of experimental pneumonia and adrenaline myocardial damage, there is a consistent increase in the content of diene conjugates (DC) and malondialdehyde (MDA) by 62,5% ($p<0,05$), 71,5% ($p<0,05$), 79,5% ($p<0,05$), 82,9% ($p<0,05$) and 55,5% ($p<0,05$), 62,1% ($p<0,05$), 72,7% ($p<0,05$), 85,7% ($p<0,05$) and a noticeable decrease in the activity of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CT) in the kidneys by 25,2% ($p<0,05$), 27,2% ($p<0,05$), respectively. 30,6% ($p<0,05$), 37,7% ($p<0,05$) and 31,2% ($p<0,05$), 34,7% ($p<0,05$), 40,3% ($p<0,05$), 45,5% ($p<0,05$) against the first group of animals, which indicated a gradual increase in lipoperoxidation processes against the background of suppression of antioxidant defense activity with the development of oxidative stress, which dominated on the 14th day of the experiment and its important role in the mechanisms of kidney damage.

The use of corvitin (on the 14th day of the experiment) compared with the indicators of the group of animals with experimental pneumonia and adrenaline myocardial damage where this drug was not administered caused an antioxidant effect, which was manifested by a decrease in the level of DC and MDA by 41,6% ($p<0,05$) and 40,1% ($p<0,05$), respectively, and an increase in the activity of SOD and CT in the kidneys by 39,6% ($p<0,05$) and 68,3% ($p<0,05$).

The development of experimental pneumonia combined with adrenaline myocardial damage (1st, 3rd, 6th, 14th day) caused an increase in the content of azoalbumin, azocasein, azocollagen in the kidneys by 69,8% ($p<0,05$), 74,3% ($p<0,05$), 82,4% ($p<0,05$), 87,8% ($p<0,05$), 82,1% ($p<0,5$), 89,0% ($p<0,05$), 91,7% ($p<0,05$), 94,5% ($p<0,05$), 100,0% ($p<0,05$), 105,2% ($p<0,05$), 110,5% ($p<0,05$), 115,7% ($p<0,05$) against the background of a decrease in the level of alpha1-protease inhibitor (alpha1-PI) and alpha2-macroglobulins (alpha2-M) by 41,9% ($p<0,05$), 43,3% ($p<0,05$), 46,4% ($p<0,05$), 47,2% ($p<0,05$) and 36,4% ($p<0,05$), 44,7% ($p<0,05$), 45,8% ($p<0,05$), 46,8% ($p<0,05$) respectively compared to the control group of animals, which indicated a consistent increase in proteolytic processes against the background

of suppression of antiprotease potential and the development of an imbalance of the proteinase-inhibitory system, which plays an important role in the mechanisms of kidney damage.

Administration of corvutin for 9 days from the 6th to the 14th day of the development of EP and APM caused a decrease in the level of azoalbumin, azocasein, azocollagen in the kidneys by 37,4% ($p<0,05$), 21,9% ($p<0,05$), 34,1% ($p<0,05$), respectively, and an increase in the content of alpha1-IP and alpha2-M by 24,5% ($p<0,05$), 72,5% ($p<0,05$), respectively, compared to the group of animals with these experimental disease models that were not exposed to this drug, which gave grounds to assert its corrective effect on the impaired indicators of the proteinase inhibitory system in the kidneys.

It was established that under the conditions of development of comorbid pathology (EP and APM) at all stages of our study (1st, 3rd, 6th and 14th day) progressive changes are observed, namely an increase in the content of stable metabolites of nitric oxide (NO) and total activity of nitric oxide synthases (NOS) in the kidneys by 71,4% ($p<0,05$), 80,5% ($p<0,05$), 85,7% ($p<0,05$), 90,4% ($p<0,05$) and 33,3% ($p<0,05$), 50,0% ($p<0,05$), 41,6% ($p<0,05$), 58,3% ($p<0,05$) against the background of a pronounced decrease in the level of L-arginine by 17,5% ($p<0,05$), 27,5%, respectively. ($p<0,05$), 32,5% ($p<0,05$), 35,0% ($p<0,05$) compared to the control group of animals.

The results of our research indicate pronounced violations of the indicators of the nitric oxide system in the kidneys at all stages of the formation of EP associated with APM, which play an important role in the mechanisms of kidney damage. The use of corvutin in animals with EP and APM caused a corrective effect on the impaired indicators of the nitric oxide system. Namely, it was found (on the 14th day of the experiment) a decrease in the content of stable NO metabolites and total NOS activity in the kidneys by 22,5% ($p<0,05$) and 26.3% ($p<0,05$), respectively, and an increase in the level of L-arginine by 45,4% ($p<0,05$) relative to the group of animals with these disease models that were not administered this drug.

Scientific novelty of the obtained results. For the first time, the role of

disorders of the processes of proteolysis, lipoperoxidation, antiprotease potential, antioxidant protection, indicators of the nitric oxide system, humoral and cellular immunity, cytokine status in the mechanisms of kidney damage under the conditions of the development of experimental pneumonia associated with adrenaline myocardial damage has been proven.

It was found for the first time that the development of the inflammatory process in the lungs, combined with adrenaline myocardial damage (1st, 3rd, 6th and 14th days) causes a consistent increase in proteolytic processes against the background of suppression of the antiprotease potential in the kidneys with a predominance on the 6th and 14th days of the experiment.

It was established for the first time that at all stages of development of experimental pneumonia associated with adrenaline myocardial damage, it is accompanied by activation of lipoperoxidation processes against the background of a significant decrease in antioxidant defense indicators in the kidneys with dominance on the 6th and 14th days of the experiment.

It was shown for the first time that the manifestation of experimental pneumonia and adrenaline myocardial damage causes a noticeable increase in the content of stable nitric oxide metabolites and the total activity of nitric oxide synthases in conditions of a decrease in the content of L-arginine in the kidneys with a particular advantage on the 14th day of the experiment.

For the first time, an imbalance between pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines in the blood was established under the conditions of the formation of comorbid pathology - experimental pneumonia and adrenaline myocardial damage.

For the first time, it was shown that under the conditions of the development of experimental pneumonia and adrenaline myocardial damage, there is a significant suppression of cellular and stimulation of humoral immunity with dominance on the 14th day of the experiment.

For the first time, the corrective effect of corvutin on impaired indicators of metabolic and immune processes under the conditions of the formation of experimental

pneumonia combined with adrenaline myocardial damage.

Practical significance of the results obtained. The obtained results of biochemical and immunological studies expand and deepen the existing knowledge on the mechanisms of kidney damage under the conditions of experimental pneumonia and adrenaline myocardial damage and can be further used in scientific research and pedagogical work.

The revealed antioxidant and immunocorrective effect of corvutin indicates the prospects and feasibility of its further study, both in the experiment and in the clinic, with the aim of correcting metabolic and immune disorders under the conditions of experimental pneumonia and adrenaline myocardial damage.

The results of the study have been implemented into the educational process at the Department of Pathological Physiology of Ivano-Frankivsk National Medical University, Ternopil National Medical University named after I. Ya. Horbachevsky, Lviv National Medical University named after Danylo Halytsky, Bukovina State Medical University, Department of Anatomy, Physiology and Pathology of Lviv Medical University, which is confirmed by the acts of implementation.

Keywords: experimental pneumonia, adrenaline myocardial damage, cytokines, lipid peroxidation, immune system, proteinase inhibitory system, nitric oxide system, corvutin.

ЗМІСТ

Перелік умовних позначень.....	20
Вступ.....	21
Розділ 1 Сучасні уявлення про епідеміологію, етіологію і патогенез ішемічної хвороби серця та пневмонії. Характеристика корвітину (Огляд літератури)	27
1.1 Епідеміологія, етіологія і патогенез ішемічної хвороби серця...	27
1.1.1. Епідеміологія серцево-судинних захворювань.....	27
1.1.2. Етіологія і патогенез ішемічної хвороби серця.....	28
1.2 Пневмонія	34
1.2.1. Епідеміологія, фактори ризику та етіологія пневмонії...	34
1.2.2. Патогенез пневмонії.....	36
1.3 Характеристика корвітину.....	45
Розділ 2 Матеріали та методи досліджень.....	52
2.1 Відбір і характеристика експериментальних груп тварин, опис дизайну дослідження.....	52
2.2 Експериментальні моделі хвороби.....	55
2.2.1 Методика відтворення експериментальної пневмонії.....	55
2.2.2. Методика відтворення адреналінового пошкодження міокарда.....	55
2.3 Одержання гомогенатів нирок у морських свинок.....	56
2.4 Методи дослідження.....	56
2.4.1. Імунологічні методи.....	56
2.4.1.1. Визначення імунних комплексів у крові.....	57
2.4.1.2. Визначення Е-РОК (Т-лімфоцитів) у крові.....	57
2.4.1.3. Визначали вміст В-лімфоцитів в крові.....	58
2.5. Імуноферментні методи.....	59
2.5.1. Визначення цитокінів.....	59
2.6. Біохімічні методи.....	60

2.6.1. Визначення малонового діальдегіду.....	60
2.6.2. Визначення дієнових кон'югатів.....	61
2.6.3. Визначення активності каталази (КТ).....	61
2.6.4. Визначення активності супероксиддисмутази (СОД).....	61
2.6.5. Визначення сумарних продуктів оксиду азоту (нітрит і нітрат йонів).....	62
2.6.6. Визначення вільного аргініну.....	63
2.6.7. Визначення сумарної активності синтази оксиду азоту...	63
2.6.8. Визначення загальної протеолітичної активності.....	64
2.6.9. Визначення вмісту $\alpha 1$ - інгібітора протеаз ($\alpha 1$ - ІІ).....	65
2.6.10 Визначення вмісту $\alpha 2$ – макроглобуліну ($\alpha 2$ – М).....	66
2.7. Статистичне опрацювання отриманих результатів.....	67
Розділ 3 Патофізіологічні зміни маркерів імунної системи в крові у морських свинок в різні періоди формування експериментальної пневмонії асоційованої з адреналіновим пошкодженням міокарда та їх корекція корвітином.....	68
3.1 Патофізіологічні зміни показників клітинного та гуморального імунітету в крові у тварин на 1-у, 3-ю, 6-у і 14-у доби експериментальної пневмонії.....	69
3.2 Особливості порушень змін показників клітинної та гуморальної ланок імунітету в сироватці крові морських свинок в динаміці розвитку АПМ.....	72
3.3 Зміни імунної системи у крові тварин в динаміці формування поєднаної ЕП з АПМ	76
3.4 Вплив корвітину на змінені маркери імунної системи у крові тварин при асоційованій - ЕП та АПМ.....	80
Розділ 4 Роль цитокінів у механізмах пошкодження нирок за умов розвитку адреналінового пошкодження міокарда і експериментальної пневмонії та їх корекція корвітином.....	85

4.1 Особливості змін цитокінового статусу в крові в динаміці формування експериментальної пневмонії.....	86
4.2 Порухення цитокіногенезу за умов розвитку адреналінового пошкодження міокарда.....	90
4.3 Вміст про і протизапальних цитокінів у крові і їх роль у механізмах пошкодження нирок при поєднанні експериментальної пневмонії і адреналінового пошкодження міокарда.....	93
4.4 Вплив корвітину на порушені показники цитокінового стану в крові при експериментальній пневмонії асоційованої з адреналіновим пошкодженням міокарда.....	97
Розділ 5 Стан прооксидантної і антиоксидантної систем у нирках в динаміці розвитку експериментальної пневмонії та адреналінового пошкодження міокарда в морських свинок та корекція їх порушень корвітином.....	101
5.1 Порухення балансу прооксидантної і антиоксидантної систем в нирках в динаміці розвитку експериментальної пневмонії.....	102
5.2 Стан ПОЛ і АОС в нирках за умов розвитку адреналінового пошкодження міокарда.....	107
5.3 Стан ПОЛ і АОС в нирках при ЕП та АПМ.....	111
5.4 Вплив корвітину на показники ПОЛ та активність ферментів АОС в нирках тварин при ЕП та АП.....	116
Розділ 6 Роль порушень системи оксиду азоту в патогенезі пошкодження нирок за умов розвитку експериментальної пневмонії асоційованої з адреналіновим пошкодженням міокарда та корекція їх корвітином.....	121
6.1 Вміст показників системи оксиду азоту в нирках морських свинок за умов формування ЕП	122

6.2 Стан системи оксиду азоту у нирках в різні періоди розвитку АПМ.....	125
6.3 Порухення системи L-аргінін-оксиду азоту в нирках за умов поєднаного розвитку ЕП та АПМ.....	128
6.4 Вплив корвітину на зміни показників системи оксиду азоту в нирках морських свинок при ЕП та АПМ.....	131
Розділ 7 Роль порушень процесів протеолізу і антипротеазного потенціалу в механізмах пошкодження нирок за умов формування експериментальної пневмонії асоційованої з адреналіновим пошкодженням міокарда та їх корекція корвітином.....	135
7.1 Стан протеїназно-інгібіторної системи в нирках при ЕП.....	135
7.2 Стан протеїназно-інгібіторної системи в нирках в динаміці розвитку АПМ.....	140
7.3 Стан протеїназно-інгібіторної системи в нирках при поєднаному ЕП та АПМ.....	144
7.4 Вплив препарату корвітину на порушені показники протеїназно-інгібіторної системи в нирках при ЕП та АПМ.....	149
Розділ 8 Аналіз та узагальнення результатів дослідження.....	154
Висновки.....	176
Рекомендації щодо наукового і практичного використання здобутих результатів.....	179
Список використаних джерел.....	180
Додатки.....	203

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

Альфа 1-ІІ –інгібітор протеаз
Альфа 2-М – макроглобуліни
АОС – антиоксидантна система
АФК – активні форми кисню
АПМ – адреналінове пошкодження міокарда
ДК – дієнові кон'югати
ЕП – експериментальна пневмонія
ІЛ-10 – інтерлейкін-10
ІЛ-6 – інтерлейкін-6
ІМ – інфаркт міокарда
ІХС – ішемічна хвороба серця
КТ - каталаза
КП – коморбідна патологія
МДА – малоновий діальдегід
СРП – с - реактивний протеїн
СОД – супероксиддисмутаза
ССЗ – серцево-судинні захворювання
ССП – серцево-судинна патологія
ССС – серцево-судинна система
ПОЛ – перекисне окиснення ліпідів
ФНП-α - фактор некрозу пухлин
ЦІК – циркулюючі імунні комплекси
NO – оксид азоту
с-NOS – сумарна активність синтази оксиду азоту

ВСТУП

Актуальність теми. Серцево-судинні захворювання у тому числі ішемічна хвороба серця (ІХС) займає перше місце за розповсюдженням та летальністю, основною причиною, якої є некротичні процеси в міокарді, що виникають, як результат здебільшого атеросклерозу коронарних судин, артеріальної гіпертензії, стресів, гіподинамії, ожиріння, цукрового діабету та метаболічних порушень [8, 18, 20, 23, 116, 118] .

Гостре адреналінове пошкодження, що є експериментальною моделлю ішемічної міокардіодистрофії суттєво впливає на імунну реактивність організму, розвиток циркуляторної гіпоксії, активізує процеси протеолізу і перекисного окиснення ліпідів, змінює цитокіновий статус [21, 22, 39, 40, 46, 90, 98, 126].

Не менш поширеним серед захворювань бронхолегеневого апарату є пневмонія, яка викликає цілий ряд ускладнень (дихальна недостатність, пневмосклероз, плеврит, легеневе серце, бронхіальну астму, тощо) [70, 77, 83, 88, 102, 111, 112, 117].

У практичній роботі лікаря (кардіолога, пульмонолога, терапевта, сімейних лікарів) досить часто спостерігаються випадки поєднаної патології – серцево-судинних захворювань і дихальної системи, а саме ІХС (стенокардії, інфаркту міокарда) і пневмонії [5, 48, 49, 72, 73, 99].

Нині, як зазначають цілий ряд вчених, що у медицині гостро стоїть проблема коморбідної патології, яка може змінювати фізіологічні процеси в організмі, знижувати його адаптаційні можливості, посилювати розвиток різноманітних ускладнень, затруднювати діагностику та ефективність лікування, обтяжувати перебіг хвороби та погіршувати їх прогноз [2, 11, 12, 15, 35, 53].

Зараз уже відомі етіологічні чинники розвитку ішемічної хвороби серця та пневмонії, про те до кінця не вивченим є патогенез їх формування. У даний час не з'ясовані механізми пошкодження нирок в динаміці розвитку пневмонії поєднаної з адреналіновим пошкодженням міокарду до та після застосування корвітину.

З огляду на це проблема коморбідної патології – пневмонії і адреналінового пошкодження міокарда є актуальною, гострою, що потребує проведення подальших експериментальних та клінічних досліджень. Власне, це визначає важливість даної теми і вказує на доцільність пошуку нових методів фармакологічної корекції.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертація є фрагментом комплексної науково-дослідницької роботи кафедри патологічної фізіології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького «Роль метаболічних та імунних порушень в патогенезі розвитку алергічних і запальних процесів, стресу, адреналінового пошкодження міокарду та їх патогенетична терапія» (№ державної реєстрації 0120U105779). Здобувач є співвиконавцем зазначеної НДР.

Мета дослідження: з'ясувати механізми пошкодження нирок за умов розвитку адреналінового пошкодження міокарда асоційованого з експериментальною пневмонією та встановити ефективність корвітину в їх корекції.

Завдання дослідження:

1. З'ясувати особливості порушень протеолітичних процесів і антипротеазного потенціалу та їх роль в патогенезі пошкодження нирок за умов формування експериментальної пневмонії і адреналінового пошкодження міокарда.

2. Вивчити роль порушень процесів ліпопероксидації і антиоксидантного захисту в патогенезі пошкодження нирок при експериментальній пневмонії поєднаній з адреналіновим пошкодженням міокарда.

3. Дослідити особливості змін показників системи оксиду азоту в механізмах пошкодження нирок за умов розвитку експериментальної пневмонії і адреналінового пошкодження міокарда.

4. Визначити роль та патогенетичні особливості порушень клітинного і гуморального імунітету в патогенезі ушкодження нирок при даних експериментальних моделях хвороб.

5. Оцінити особливості змін цитокінового статусу та їх роль в механізмах пошкодження нирок при даних коморбідних патологіях.

6. Встановити можливість фармакологічної корекції, виявлених імунних та метаболічних порушень при експериментальній пневмонії з адреналіновим пошкодженням міокарда за допомогою корвітину.

Об'єкт дослідження: експериментальна пневмонія і адреналінове пошкодження міокарда.

Предмет дослідження: показники протеолізу і антипротеазного потенціалу, перекисного окиснення ліпідів і антиоксидантної системи, системи оксиду азоту, цитокінового статусу і імунної системи в крові і в нирках інтактних тварин, морських свинок з адреналіновим пошкодженням міокарда і експериментальною пневмонією до та після застосування корвітину.

Методи дослідження:

- імуноферментні (визначення про- і протизапальних цитокінів у крові);
- імунологічні (визначення вмісту Т і В-лімфоцитів і циркулюючих імунних комплексів в крові);
- біохімічні (визначення вмісту дієнових кон'югатів, малонового діальдегіду, стабільних метаболітів оксиду азоту, сумарної активності NO синтаз, активності супероксиддисмутази, каталази, рівня азоальбуміну, азоказеїну, азоколагену, альфа1-інгібітора протеаз, альфа2-макроглобулінів у гомогенаті нирок);
- математичні (опрацювання числових значень результатів експериментальних досліджень за методом варіаційної статистики з обчислювальним критерієм Стьюдента).

Наукова новизна отриманих результатів.

Уперше доведено роль порушень процесів протеолізу, ліпопероксидації, антипротеазного потенціалу, антиоксидантного захисту, показників системи оксиду азоту, гуморального і клітинного імунітету, цитокінового статусу в механізмах пошкодження нирок за умов розвитку експериментальної пневмонії асоційованої з адреналіновим пошкодженням міокарда.

Уперше виявлено, що розвиток запального процесу в легенях, поєднаний з адреналіновим пошкодженням міокарда (1-а, 3-я, 6-а і 14-а доби) спричиняє послідовне зростання протеолітичних процесів на тлі пригнічення антипротеазного потенціалу в нирках з перевагою на 6-у і 14-у доби експерименту.

Уперше встановлено, що на усіх етапах розвитку експериментальної пневмонії асоційованої з адреналіновим пошкодженням міокарда супроводжується активізацією процесів ліпопероксидації на тлі суттєвого зниження показників антиоксидантного захисту в нирках з домінуванням на 6-у і 14-у доби експерименту.

Уперше показано, що маніфестація експериментальної пневмонії і адреналінового пошкодження міокарда зумовлює помітне зростання вмісту стабільних метаболітів оксиду азоту та сумарної активності синтаз оксиду азоту в умовах зниження вмісту L-аргініну в нирках з особливою перевагою на 14-у добу експерименту.

Уперше встановлено дисбаланс між прозапальними та протизапальними цитокінами в крові за умов формування коморбідної патології – експериментальної пневмонії і адреналінового пошкодження міокарда.

Уперше показано, що за умов розвитку експериментальної пневмонії і адреналінового пошкодження міокарда відбувається суттєве пригнічення клітинного та стимуляція гуморального імунітету з домінуванням на 14-у добу експерименту.

Уперше доведена коригуюча дія корвітину на порушені показники метаболічних і імунних процесів за умов формування експериментальної пневмонії поєднаної з адреналіновим пошкодженням міокарда.

Практичне значення отриманих результатів.

Одержані результати біохімічних і імунних досліджень розширюють та поглиблюють існуючі знання з механізмів пошкодження нирок за умов розвитку експериментальної пневмонії і адреналінового пошкодження міокарда і можуть надалі застосовуватися в науково-дослідній і педагогічній роботі.

Виявлений антиоксидантний та імунокоригуючий вплив корвітину вказує на перспективність та доцільність його подальшого вивчення, як в експерименті так і в клініці з метою корекції метаболічних і імунних порушень за умов формування експериментальної пневмонії і адреналінового пошкодження міокарда.

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, Буковинського державного медичного університету, кафедрі анатомії, фізіології та патології Львівського медичного університету, що підтверджено актами впровадження.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є повністю самостійним науковим дослідженням здобувача. Дисертант особисто провів інформаційний пошук, аналіз літературних джерел, розробив алгоритм досліджень. Особисто моделював експериментальну пневмонію і адреналінове пошкодження міокарда, проводив експериментальні дослідження і статистичне опрацювання отриманих даних. Написано і оформлено дисертацію. Разом з науковим керівником сформульовано висновки. Під час написання роботи автор не використовував раніше опублікованих матеріалів співавторів наукових публікацій за темою дисертаційного дослідження. У наукових працях, які опубліковано у співавторстві, дисертанту належить визначальна співучасть у виконанні експериментальної частини роботи, статистична обробка та узагальнення одержаних даних, підготовка матеріалів до друку.

Апробація результатів дисертації. Основні результати дисертаційної роботи оприлюднені на: IX Національному конгресі патофізіологів України з міжнародною участю «Патологічна фізіологія - охороні здоров'я України» (Івано-Франківськ, 2024), XIV Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» (Тернопіль, 2024), XXIII читання ім. В.В. Підвисоцького (Одеса, 2024).

Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи надруковано 8 наукових праць. З них 3 статті у науково-фахових виданнях України, 2 – в іноземних періодичних виданнях та 3 публікації у матеріалах конгресу і міжнародних науково-практичних конференціях.

Обсяг та структура дисертації. Дисертаційна робота викладена українською мовою на 210 сторінках комп'ютерного тексту (основний обсяг становить 159 сторінок), складається з вступу, огляду літератури, розділу з описом матеріалів та методів, п'яти розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних джерел (всього 189 джерел, з них 74 іноземних), додатків. Робота ілюстрована 72 таблицями, 20 рисунками.

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО ЕПІДЕМІОЛОГІЮ, ЕТІОЛОГІЮ І ПАТОГЕНЕЗ ІШЕМІЧНОЇ ХВОРОБИ СЕРЦЯ ТА ПНЕВМОНІЇ. ХАРАКТЕРИСТИКА КОРВІТИНУ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1. Епідеміологія, етіологія і патогенез ішемічної хвороби серця

1.1.1. Епідеміологія серцево-судинних захворювань

За результатами експертів ВООЗ серцево-судинні захворювання (ССЗ) за розповсюдженістю та летальністю займають перші позиції, не тільки в Україні, але й в Європі і США та в цілому світі [8, 18, 27, 41, 97, 118].

В Україні зростають випадки серцево-судинної патології (ССП) і набувають прогресивного характеру. Зокрема розповсюдженість та захворюваність на ІХС (гострий інфаркт міокарда) стабільно зростає і становить 33,8%, 28,1% серед дорослого населення 27,2%, 24,7% - серед осіб працездатного віку [18, 22, 27, 30, 31, 58, 59, 66].

Відомо з літературних джерел, що смертність серед чоловічої та жіночої статі – кожний шостий чоловік та кожна сьома жінка у Європі помирають від інфаркту міокарда (ІМ) [18, 21, 31, 107, 175].

У Сполучених Штатах Америки серцево-судинні захворювання (ССЗ) посідають перше місце серед усіх причин смерті – 599 413 тис. випадків, що становить 24,6%, а American Heart Association (2018) описує, що летальність від ішемічної хвороби серця (ІХС) становить 43,8% від серцево-судинної смертності [18, 22, 27, 30, 31, 41, 175].

Ряд науковців вказують на те, що серед дорослих пацієнтів на серцево-судинну патологію перевищує 26,2 млн. осіб, з яких 9,6 млн. працездатного віку. Виявлено 7,5 млн. летальних випадків (13 % від загальної смертності) викликане

підвищеним АТ, з яких 51 % - інсультів та 45 % - від ішемічної хвороби серця [18, 20, 22, 27, 30].

1.1.2. Етіологія і патогенез ішемічної хвороби серця

Численні вчені стверджують, що етіологічними чинниками виникнення ССЗ є: гіподинамія, стреси, паління, цукровий діабет, ожиріння, надмірне споживання алкоголю, гіперхолестеринемія, атеросклероз коронарних артерій, обтяжена спадковість, домінують чоловіки, вік. Наприклад деякі дослідження констатують про те, що збільшення ризику розвитку інфаркту міокарда на 40 % внаслідок паління 1-5 сигарет щодня. Дана шкідлива звичка здатна протидіяти ефекту вторинної профілактики – прийом статинів, аспірину [1, 41, 57, 66, 90, 127, 166, 167, 188].

Разом з вище перерахованими факторами щодо розвитку ССЗ важливе значення має вивчення – інтерлейкіну-6, високочутливого С- реактивного протеїну, фактора некрозу пухлин- α , інсулінорезистентність (ІР) і гіперінсулінемія, тригліцериди (ТГ), адипонектин, неалкогольна жирова хвороба печінки (НАЖХП), гамаглутамілтранспептидаза (ГГТП), лептин, мікроальбумінурія, аполіпопротеїн А, фібриноген, сечова кислота (СК), гомоцистеїн, [21, 27, 31, 57, 90, 104, 176, 187].

Відомо, що зумовлюють інфаркт міокарда метаболічні і токсичні пошкодження міокарду. Дія стресових чинників викликає гіперкатехоламінемію та активацію процесів перекисного окиснення ліпідів та пригнічення антиоксидантного захисту. Також це спричинено порушенням кальцієвого гомеостазу, що можуть викликати у тканині міокарда класичні патологічні зміни. Останні призводять до розвитку фіброзу міокарда [27, 31, 41, 90, 121].

Хронічний психоемоційний стрес викликає тривалу пероксидацію ліпідів серця, активацію ліпаз і фосфоліпаз. Це сприяє формуванню атеросклерозу судин, ішемічній хворобі серця, гіпертонічній хворобі. Важливим ризик-фактором стресорного ураження міокарду є навіть у молодих людей, які характеризуються надзвичайно цілеспрямованими, честолюбними, амбіційними,

що орієнтовані на кар'єрний успіх. Ці особи не дозволяють собі розслабитися, відпочивати. У даної категорії людей спостерігається високий рівень холестерину, посилене згортання крові, рано розвивається атеросклероз і ішемічна хвороба серця, існує великий ризик інфаркту міокарду. Досить частою причиною смерті при хронічному психоемоційному стресі стає аритмія шлуночків серця як результат збудження вагоінсулярної системи [1, 31, 41, 90, 119, 123, 157, 158, 162].

Стрес психоемоційний, як і стрес фізіологічний, викликає хвилеподібну активацію вільнорадикального окислення в крові і тканинах, а саме в тканинах головного мозку. Короткочасний окислювальний підйом спостерігається вже в перші хвилини стресу, потім він зменшується і зникає (внаслідок реактивної активації антиоксидантних систем), а вторинний підйом відбувається на 2-4-му тижні важкого хронічного стресу з явищами виснаження. У мозку уповільнюється локальний кровоток в лімфіко-ретикулярних структурах, виникають структурні пошкодження в гіпокампі, гіпоталамусі, мозковій корі. Розвиток окислювального стресу відіграє провідну роль в стресорному ушкодженні міокарду і ендотелію кровоносних судин [22, 27, 41, 90, 121, 160, 163, 164].

Сучасні дослідження американських учених на 90 тис. людей показали, що в тих, хто страждав від стресу на роботі, рівень холестерину в крові був на 13-17% вище, ніж у контрольній групі. Разом з цим виявлено дуже низький рівень антиатерогенних фракцій ліпопротеїнів. Тому у таких людей частіше спостерігається високий ризик внутрішньосудинного тромбоутворення [1, 57, 127].

Відомо з літератури, що гострі та хронічні стреси спричиняють гіперадреналемію. Найбільший рівень адреналіну зростає у крові й міокарді при його ішемії та гіпоксії. Це зумовлює ішемічну хворобу серця (ІХС). В основному дія адреналіну на міокард пояснюється здатністю посилювати процеси ліпопероксидації, накопичувати іони кальцію та пригнічувати захисні систем організму [1, 21, 31, 45, 57, 90, 104, 123, 127, 164, 165].

Описано, що агресивна поведінка, яка може бути наслідком психоемоційного стресу, корелює з палінням, споживанням алкоголю, солі, високою калорійністю дієти за рахунок тваринних жирів. – Усі ці чинники атерогенезу, як правило діють синергічно. Епідеміологічні дослідження 1000 мешканців міста Бонн у Німеччині віком 20-60 років показали, що половина обстежених жили на тихих вулицях, гіпертоників серед першої групи було 14,6%, друга – на магістралях. – 22,8% [22, 27, 41, 45].

На сьогодні антагоністами розвитку атеросклерозу є систематичні заняття з фізкультури, низьке споживання алкоголю, відмова від куріння, дієта з низьким вмістом тваринних жирів [45, 187].

Однією з найпоширеніших причин ССЗ є запальне пошкодження судинної стінки (ендотелію), що спричиняє розвитку атеросклерозу. За цих умов поглинаються ліпопротеїни низької щільності (ЛПНЩ) макрофагами. На початку атеросклерозу відбувається нагромадження Т-лімфоцитів та пінистих клітин. Це так звана – ліпідна пляма. Гладком'язеві клітини перероджують атерому з ліпідної плями, а далі настає нестабільність бляшки шляхом міграція в інтиму і синтез позаклітинного матриксу. Це погіршує структуру фіброзної капсули атероми. Згодом спостерігається нагромадження солей кальцію в бляшці. Останнє спричиняє нестабільність і провокує мікророзриви. У місці пошкодження відбувається агрегація тромбоцитів. Потім утворюються тромби. Цей процес ускладнюється характерною присутністю медіаторів прозапального ряду – цитокінів, факторів активації тромбоцитів, хемокінів та ейкозаноїдів, які стимулюють запальний процес, що призводить до прогресування атеросклеротичної бляшки [21, 31, 41, 57, 90, 154, 187].

У даний час, окремі вчені вказують на розвиток набутого антигенспецифічного імунітету. А саме до антигенів можуть відноситися збудники інфекційного походження, білки теплового шоку, β -2 глікопротеїн та модифіковані ліпопротеїди. Відомо, що макрофаги, дендритні, ендотеліальні клітини представляють антигени і забезпечують взаємодіють з Т-клітинами.

Велику кількість цитокінів секретують активовані Т-клітини, які викликають атерогенез. [22, 27, 31, 41].

У розвитку ССЗ велике значення відіграє ожиріння, як причина і фактор ризику ІХС.

Встановлено, що існує тісний зв'язок ожиріння з фактором некрозу пухлини- α та ІР, що може посилювати запалення [21, 31, 168].

Ряд науковців і лікарів довели, що жирова тканина синтезує багато адипоцитокінів, які впливають на метаболічні процеси. Одні з таких є протизапальними, так звані – позитивні, які пригнічують атерогенез (оментин-1, адипонектин, та апелін) та інші, а саме – вчСРП, фактор некрозу пухдин- α , резистин, лептин, – негативні, підвищення рівня яких поєднується з дисліпідемією, запальним процесом та гіпертензією. Тому, нині вважається прогностично негативними маркерами ССЗ є зниження вмісту гіпоадипонектинемія, оментину, ІР, та гіперлептинемія [22, 31, 41, 51, 187].

З літератури відомо, що адипоцити на відмінно від шару підшкірної жирової клітковини, набагато активніший (як частина ендокринної системи) є мезентеріальні адипоцити, що формують вісцеральний жир, які суттєво впливають на ендокринну, метаболічну та імунну системи організму [21, 22, 57].

Доведено, що інсулінорезистентність є важливим чинником формування ССЗ, а саме неможливість інсулінового гормону брати участь у виробленні глікогену, ліпідів та протеїнів у скелетних м'язах та регулювати вміст глюкози [21, 31, 41].

На сьогодні уже відомо, що надмірно розвинутий вісцеральний жир може бути як активний орган ендокринної системи, із-за зниження кровообігу настає гіпоксія, інфільтрація макрофагів та тління запального процесу. Власне це призводить до підвищення толерантності до інсуліну. Згодом жирова тканина починає синтезувати підвищений рівень адипоцитокінів (лептину та фактори некрозу пухлин- α). За таких умов відбувається підвищення резистентності до інсулінового гормону. Дані реакції згодом трансформуються в патологічний обіг, в якому відбувається перманентна надмірна продукція адипоцитокінів. Це

викликає підвищення інсулінорезистентності, що в свою чергу подальше накопичення адипозної тканини, яка синтезує ще більшу кількість адипоцитокінів. Тому вони змінюють як локальні, так і системні процеси [21, 22, 31].

Такі зміни впливають на ліпіди, глюкозу та пурини крові. Це викликає ЦД 2-го типу та атеросклероз, неалкогольну жирову хворобу печінки, подагру, неалкогольну жирову хворобу підшлункової залози, артеріальну гіпертензії. [124, 174].

Відомо, що зниження рівня загального ХС та ЛПНЩ зменшує ССЗ, що має важливе значення для профілактики і лікування серцевої патології. Сприяти розвитку ССП можуть і інші порушення ліпідного обміну,. Здебільшого це проявляється підвищенням холестеролу ліпопротеїнів дуже низької щільності в динаміці розвитку невеликого підвищення рівня триацилгліцеролів (ТГ), холестеролу ЛПНЩ та зниження холестеролу ЛПВЩ, що описана в літературі, як «атеросклеротична ліпідна тріада» [21, 22, 31, 41, 104, 124, 187].

Ряд літературних джерел вказують на те, що при ІХС розвивається порушення цитокінового статусу, процесів ліпопероксидації та імунної системи, показників NO, протеолізу і антипротеазного потенціалу [9, 15, 17, 25, 36, 152, 181].

Експериментальними дослідженнями показано, що розвиток дифузно ішемічно-некротичного кардіосклерозу залежить від ступеня вираженості оксидативного, нітрооксидативного стресу та антиоксидантного захисту міокарда, а також індивідуально-типологічних особливостей організму, що визначають стійкість організму до гіпоксії. У тварин із високою стійкістю до гіпоксії наростання концентрації продуктів ліпопероксидації та зниження рівня нітрит-аніону в динаміці розвитку кардіосклерозу відбувається менш інтенсивно, ніж у середньо- та низькостійких тварин [93, 94, 97].

Водночас антиоксидантний захист міокарда різко пригнічується до 7-ї доби експерименту при ішемічно-некротичному кардіосклерозі у тварин з низькою стійкістю до гіпоксії (зниження активності супероксиддисмутази у 2,8

раза, $p < 0,001$) і середньою стійкістю до гіпоксії (зниження активності супероксиддисмутази в 1,5 раза, $p < 0,002$) порівняно з показниками контрольних груп тварин, з подальшим зниженням активності антиоксидантної системи [94, 96, 97, 99].

Встановлено, що за умов дифузно ішемічно-некротичного кардіосклерозу відбувається в період найбільш вираженої реакції прозапальної ланки цитокінів, що (проявляється підвищенням рівнів IL-1, IL-6, TNF-а на початковому етапі: концентрація IL-1 у тварин з низькою стійкістю до гіпоксії перевищує на 70,1% ($p < 0,001$), у середньостійких до гіпоксії тварин - на 55,7% ($p < 0,001$) та у високостійких - на 44,4% ($p < 0,001$) проти показників контрольної групи тварин [95, 97].

Було доведено, що характерною особливістю реакції протизапальної ланки цитокінової реакції в патогенезі дифузного ішемічно-некротичного кардіосклерозу є підвищення на всіх етапах розвитку процесу у тварин з високою стійкістю до гіпоксії вмісту IL-10. Максимальне підвищення концентрації IL-10 в сироватці крові виявляється через 7 діб проти контролю [93, 95, 97].

Встановлено, що період формування дифузного кардіосклерозу супроводжується підвищенням вмісту імуноглобулінів М і G в сироватці крові тварин із найвищим рівнем у низькостійких до гіпоксії тварин (вміст Ig G збільшується на 44,0%, $p < 0,001$; у середньостійких - на 23,5%, $p < 0,001$; у високостійких - на 16,3%, $p < 0,001$ порівняно з контролем [97].

Відомо з літературних джерел, що інтенсивність процесів протеолізу контролюється низкою тканинних та плазмових інгібіторів протеїназ (альфа 2-макроглобулін ($\alpha 2$ -МГ), альфа 1-інгібітора протеїназ ($\alpha 1$ -ІП), антитромбін ІІІ, тканинний інгібітор матриксної металопротеїнази-1 та виявлено їх важливу роль в патогенезі ІХС [9, 36, 52, 68]. В дослідженнях ряду вітчизняних та зарубіжних лабораторій встановлено провідну роль високомолекулярного білка плазми крові $\alpha 2$ -макроглобуліну ($\alpha 2$ -М) в регуляції активності протеолітичних систем крові та тканин, якому притаманна здатність контролювати активність серинових, кислих, тіолових і металопротеїназ, а також відігравати важливу роль в

клітинному росту, модуляції активності різних цитокінів – інтерлейкінів, факторів росту, в регуляції синтезу NO макрофагами та ін [9, 36, 65, 120, 130, 155, 156]. Поряд з C1-інактиватором, $\alpha_2\text{M}$ є інгібітором калікреїну плазми крові – ферменту, який каталізує утворення вазоактивного пептиду – брадикініну. Біологічна дія його спрямована на регуляцію мікроциркуляції, зниження артеріального тиску, скорочення гладкої мускулатури, стимуляцію синтезу простагландинів, що при їх надмірному утворенні зумовлює виникнення больового синдрому [94, 95, 96].

1.2 Пневмонія

1.2.1. Епідеміологія, фактори ризику та етіологія пневмонії

На сьогодні пневмонія розглядається як гостре інфекційне захворювання, переважно бактерійної етіології, яке характеризується вогнищевим ураженням респіраторних відділів легень і наявністю внутрішньоальвеолярної ексудації.

Розповсюдженість цієї недуги в Україні складає більше як 400 осіб на 100 тисяч населення. З 2019 і 2020 роки у світі в результаті ускладнень коронавірусної інфекції зросла кількість пневмонії [45, 70, 77].

Відомо, що кожні 7 секунд у світі помирає одна дитина від пневмонії, а впродовж року близько 5 млн. дітей віком до п'яти років. Ці дані вказують на те, що запалення легень є однією з головних причин дитячої смертності [77, 78].

У даний час, летальність від цього захворювання зросла від 1% до 9%, а за умов розвитку ускладнень пневмонією у реанімаційних відділеннях, частота летальності сягає до 40-50% [77]. На сьогодні зростає захворюваність на пневмонію тяжкого перебігу в зв'язку з розвитком коронавірусної інфекції, цукрового діабету, алкоголізму [45, 70, 77, 87].

За результатами Центру медичної статистики МОЗ України, в 2016 році спостерігалось зростання захворюваності пневмоніями порівняно з даними за 2015 рік на 16,3 % або зростання з 394,2 до 458,3 на 100 тис. дорослого населення. У 2016 році пневмонія на 100 тис. дорослого населення перевищувала середньостатистичний показник в Україні, що становив 458,3 і спостерігалась

найбільше у таких областях: Київській – складала 827,7; Житомирській – 677,4; Полтавській – 659,8 [70, 77, 86].

У різних країнах світу захворюваність на пневмонію коливається від 3,5 до 15 випадків на 1 тис. населення, а смертність складає від 2–3% до 25%. У США щороку більше 4 млн. осіб хворіють на пневмонію, з них до 25% потребують лікування в умовах стаціонару [77, 87].

Зазначається що серед хворих на гострі пневмонії переважають чоловіки – 55 %. Захворюваність пневмоніями зростає з віком, 55% хворих відноситься до вікової групи 40-59 років, 34% хворих – особи старше 60 років. Найвища летальність спостерігається серед осіб старше 55 років. Тривалість тимчасової непрацездатності від пневмоній коливається від 13 до 45 днів, у середньому 26 днів [35, 70, 77, 87].

Пневмонія – це захворювання з високим рівнем розповсюдженості, що займає четверте місце серед причин захворюваності і смертності після серцево-судинної патології, онкологічних хвороб, травм і отруєнь. Ця патологія набула соціально-економічного значення через те, що призводить до значних економічних збитків, спричиняє подовження періодів непрацездатності, ускладнень, смерть.

Коморбідна патологія (цукровий діабет, серцево-судинні захворювання, патологія нирок і печінки, тощо) помітно впливає на тяжкість перебігу і летальність хворих на нешпитальну пневмонію, яка зростає і може досягати 20-30% особливо людей похилого віку. Основними факторами ризику щодо розвитку пневмонії в основному є гострі та хронічні захворювання серцево-судинної, дихальної, ендокринної, травної, сечовидільної системи (інфаркт міокарда, серцева недостатність, гіпертонічна хвороба, вади серця, бронхіти, бронхіальна астма, ниркова і печінкова недостатність, виразкова хвороба шлунка, цукровий діабет), інфекційна патологія (гострі респіраторні інфекції), імунодефіцитні стани, професійні хвороби, травми грудної клітки [22, 35, 77, 133, 134, 174, 176, 184, 185, 186, 189].

Відомо, що сприятливими факторами розвитку пневмонії є генетичні і соціальні (паління тютюну, зловживання алкоголем, наявність у батьків хронічних захворювань бронхолегеневого апарату, гіподинамія).

На сьогодні відомі різні етіологічні чинники, що можуть зумовлювати розвиток пневмонії. Пневмокок є найчастішим збудником позашпитальної пневмонії у 75-90 % хворих [77, 174].

Друге місце займає серед збудників пневмонії грамнегативна паличка. Позашпитальну пневмонію у 20-30% пацієнтів викликає *Mycoplasma pneumoniae* [70, 77, 88].

Третю позицію серед грамнегативних мікроорганізмів займає *Chlamydiae* і *Legionella pneumoniae*, які можуть зумовлювати від 8-10,5 % випадків пневмонії. Пневмонію викликають *Moraxella catarrhalis* у 1-2% і паличка Фрідлендера – 1-8% пацієнтів [77]. Вірусні пневмонії складають від 3-9% випадків. В період епідемії грипу підвищується рівень вірусно-бактеріальних пневмоній [77, 88].

Запалення легень від 1-5% хворих викликають грампозитивні коки *Staphylococcus aureus* і *Streptococcus haemolyticus* [77, 87].

Аналіз літературних джерел вказує на те, що пневмонія є досить поширеним захворюванням не лише серед захворювань дихальної системи, але й серед інших захворювань внутрішніх органів і має поліетіологічний генез, що суттєво впливає на механізми розвитку цієї патології, ускладнює діагностику і затруднює лікування.

1.2.2. Патогенез пневмонії

Важливим у розвитку пневмонії є виявлення патогенних властивостей збудників і шляхів його проникнення в організм, а саме до легень. Здебільшого у 80% випадків провідним шляхом проникнення збудника є бронхогенний, а інший (гематогенний і лімфогенні) є додаткові і спостерігаються рідше. Мікроорганізми активно розмножується на слизовій оболонці верхніх дихальних шляхів, а потім, поступово проникає у бронхи і легені [2, 11, 26, 29, 77, 88].

Важливу роль у розвитку пневмоній відіграє стан місцевого бронхопульмонального імунітету та захисні фактори організму до яких належать бронхопульмоногенна імунна система слизових, альвеолярні макрофаги, сурфактант, протиінфекційні фактори бронхіального секрету, (лізоцим, лактоферин, інтерферон) мукоцільарний транспорт [50, 70, 77, 94, 113, 1255].

Серед місцевих чинників імунного захисту при пневмонії знижується – активність лізоциму, лактоферину, секреторного IgA, зменшується концентрація бактеріальних антитіл та інтерферонів [26, 29, 77, 83, 125]. Як відомо, що лізоцим стимулює фагоцитоз, стимулює синтез антитіл, виявляє бактеріостатичну і бактерицидну дію, потенціює дію гідролітичних ферментів, виступає в ролі опсоніна, попереджає персистенцію та носійство патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів [77]. Важливе значення мають інтерферони у формуванні протиінфекційної резистентності, які здатні посилювати цитотоксичність клітин, фагоцитарну активність макрофагів, експресію рецепторів низки прозапальних цитокінів, а також молекул головного комплексу гістосумісності [50, 54, 88].

Секреторний IgA, може нейтралізувати віруси, пригнічувати адгезію бактерій і перешкоджати всмоктуванню антигенів через слизову оболонку. Цей імуноглобулін може утворити з інфекційними патогенами імунні комплекси, які за участю неспецифічних факторів (системи комплементу і макрофагів) виводяться з організму. Відомо, що хворі з дефіцитом секреторного IgA антигени можуть безперешкодно адсорбуються на слизових верхніх дихальних шляхів. А згодом надходять у кров і гематогенним шляхом інфікування зумовлюють розвиток пневмонії [50, 54, 70, 77, 83, 111, 122].

Цілий ряд вчених вказують на те, що одним з пускових механізмів розвитку пневмонії є імунні механізми, оскільки провідну роль відіграють фактори порушення динамічної рівноваги між мікроорганізмами і макроорганізмом. З одного боку важливим є кількість і активність мікроорганізмів, а з іншого стан місцевого бронхопульмонального імунітету і загального імунітету, в разі порушення цієї рівноваги у бік переваги

мікроорганізмів на тлі зниження місцевого та загального імунітету та наявності факторів ризику, здебільшого розвивається запальний процес в легенях [80, 54, 70, 77, 83, 88].

У формуванні стійкості людського організму до впливу патогенів суттєву роль відіграють клітинні і гуморальні фактори імунної системи [88, 125].

Як було доведено експериментальними так і клінічними дослідженнями, що в умовах затяжного перебігу пневмоній виявляється зниження рівня гуморальних чинників – імуноглобулінів класів IgA, IgM, IgG. Загальновідомим є факт про те, що основними функціями імуноглобулінів є специфічне розпізнавання різноманітних антигенів та гаптенів, взаємодія з іншими імунокомпетентними клітинами, які мають до них відповідні рецептори, активація системи комплементу. Відомо з літератури, що система комплементу є важливим гуморальним медіатором запалення, що виконує захисну функцію в організмі. За певних умов може сприяти пошкодженню власних тканин. У ході активації комплементу утворюються продукти, які мають виражений біологічний ефект, кінцевим результатом дії яких є розвиток і прогресування запалення бронхолегеневої системи [77, 88, 94, 113].

Серед імунокомпетентних клітин важливу роль в протиінфекційному захисті організму відіграють поліморфно-ядерні лейкоцити (нейтрофільні гранулоцити, макрофаги). Вони приймають активну участь у поглинанні та дезінтеграції антигенів інфекційного походження. Під час цього процесу продукують низку противірусних і бактерицидних медіаторів. Доведено, що активізація нейтрофілів відбувається під впливом фагоцитованих частин або клітин мікроорганізмів, імунних комплексів, компонентів комплементу. Вважається, що активовані нейтрофіли є продуцентами ферментів, які відповідають за безпосереднє пошкодження тканин при імунних запальних процесах. Також відомо, що нейтрофіли приймають участь в реалізації імунокомплексного механізму пошкодження тканин і спричиняють вплив на усі механізми запального процесу [77, 83, 88, 94].

У пацієнтів на пневмонію встановлено зниження показників клітинного імунітету – фагоцитарної активності лейкоцитів та альвеолярних макрофагів []. У хворих на пневмонію виявлено зниження числа і активності Т- лімфоцитів, фагоцитарної активності, фагоцитарного індексу і числа лізосом у моноцитах, вміст В-клітин, який виявлявся лише у 14,3 % випадків. За іншими результатами досліджень було показано зростання числа Т-лімфоцитів у крові при пневмонії. За умов розвитку затяжного перебігу та наявності бронхоектазів їхнє число зменшувалось. У цьому зв'язку вважається, що у разі суттєвого зниження рівня Т і В-лімфоцитів збільшується небезпека розвитку різних ускладнень у вигляді нагнійних процесів в органах дихання [77, 83, 94, 113, 153].

Доведено, що зменшення впливу гуморальної, клітинної та фагоцитарної систем сприяє внутрішньоклітинному паразитуванню мікроорганізмів та вірусів, дисемінації та прогресуванню запального процесу в легенях. Це особливо є характерним для гострої респіраторної вірусної інфекції, яка пригнічує як гуморальні, так і клітинні механізми імунітету, викликає функціональні і морфологічні зміни миготливого епітелію, порушує дренажну функцію бронхів та мукоцільярного кліренсу. У разі порушеного мукоцільярного кліренсу та зниженої фагоцитарної активності нейтрофілів і альвеолярних макрофагів інфікуються бактеріями. Це сприяє запаленню легень. Імунна реакція організму, утворення специфічних антиінфекційних антитіл має подвійне патогенетичне значення (захисне і пошкоджувальне). З одного боку, це сприяє загибелі збудника хвороби і в цьому напрямі діють і неспецифічні реакції організму – підвищення фагоцитарної активності лейкоцитів, комплементарної, лізоцимної та бактерицидної активності сироватки. З іншого боку, формуються імунні комплекси, які складаються з інфекційного антигену (збудника захворювання) і антитіла до нього, що активізують систему комплементу і викликають розвиток імунозапальних реакцій у легеневій тканині [77, 88, 94, 111].

Важливе значення для патогенезу пневмонії має розвиток сенсibiliзації організму до інфекційних агентів.

На сьогодні крупозну пневмонію розглядають, як прояв гіперергічної реакції організму, в цей же час як нормо або гіпоергічна реакція, супроводжується розвитком вогнищевої пневмонії.

Численні науковці підкреслюють, що велике значення для патогенезу пневмонії відіграють цитокіни. Т хелпери і макрофаги є основними продуцентами цитокінів [77, 88, 111, 135]. Це велика група біологічно активних пептидів, яким властива гормоноподібна дія, що полягає у забезпеченні взаємодії клітин імунної, кровотворної, ендокринної та нервової систем. Під час реалізації імунної відповіді, вивільняється комплекс цитокінів, що складає так званий «цитокіновий каскад». Є цитокіни першого покоління (так звані доімунні цитокіни), які продукуються клітинами природженої резистентності та другого покоління - продукти секреторної активності імунокомпетентних клітин. У процесі антигенної стимуляції, секретуються цитокіни першого покоління (ФНП- α , ІЛ-1 β і ІЛ-6). Вони стимулюють біосинтез ІЛ-2, що виступає у ролі центрального регуляторного цитокіну, а також (цитокінів другого покоління) ІЛ-3, ІЛ-4, ІЛ-5 та інтерферону. Згодом останні спричиняють коригуючу дію на біосинтез ранніх цитокінів. Власне зазначений принцип дії дає можливість залучати до імунної відповіді постійно зростаючу кількість клітин [26, 88, 120, 148].

За своєю функціональною активністю цитокіни поділяються на про- і протизапальні. Прозапальні цитокіни представлені ІЛ-1 β , ІЛ-2, ІЛ-6, ІЛ-8, ГМ-КСФ, інтерферони і ФНП- α . До протизапальних цитокінів належать ІЛ-4, ІЛ-10, ІЛ-13 і ТФР- β . Як одні так і інші відіграють суттєву роль в механізмі запалення легень [26, 77, 83, 120, 136, 146, 172].

Встановлено, що генералізовані реакції при запаленні обумовлюються до імунними цитокінами - продуктами активованих макрофагів, нейтрофілів і дендритних клітин. Вплив даних цитокінів відбувається на початкових етапах запалення, обмежується вогнищем, а далі поширюється на весь організм (генералізується). Водночас включаються багато механізмів, що сприяють попередженню генералізації інфекційного агенту [26, 77, 120, 135, 137, 171].

Загальновідомим є факт, що макрофаги синтезують прозапальні цитокіни (ФНП- α , ІЛ-1 β й ІЛ-6), які, з одного боку, підтримують розвиток запальної реакції, а з іншого - стимулюють імунокомпетентні клітини, готуючи їх до майбутньої антигенної презентації. Власне з вивільненням макрофагальних цитокінів пов'язані метаболічні перебудови при запаленні і виникнення симптомів інтоксикації [26, 77, 83, 120, 135, 141, 173, 179].

Цілий ряд, як експериментальних та клінічних досліджень вказують на те, що на початку запалення зростає рівень, як прозапальних та антизапальних цитокінів, а пізніше вміст в крові протизапальних цитокінів помітно знижуватися. Що свідчить про порушення рівноваги між про- та протизапальними цитокінами. Такий порушений баланс між про- та протизапальними цитокінами має вирішальне значення у визначенні результату хвороби. Також відомо, що цитокіни прямо пошкоджують епітеліальну цілісність пневмоцитів І типу, які вистеляють альвеоли і беруть участь у газообміні. Це призводить до дефіциту сурфактанту. [77, 83, 120].

Зміни продукції, секреції та рецепції протизапальних цитокінів призводить до глибоких дефектів протиінфекційного захисту й ускладнює пряму ушкоджуючу дію мікроорганізмів та їх токсинів на легені. Відомо, що підвищення продукції прозапальних цитокінів чи дисбаланс співвідношення опозиційних пулів відіграють помітну роль у механізмах пневмоній за рахунок підсилення агрегації лейкоцитів до судинного епітелію, стимуляція його прокоагулянтної активності, залучення до зони запалення ефекторних клітин. Це посилює патоімунний процес і призводить до цитокін-опосередкованого ураження легень [26, 77, 83, 120].

На рівень синтезу цитокінів впливає тип збудника. Встановлено, що для стафілококового запального процесу характерне значне підвищення рівнів протизапальних цитокінів- ІФН γ , ІЛ-4 та ІЛ-8 в бронхоальвеолярному лаважі. Кандидозні пневмонії зумовлюють синтезу ІФН- γ . При спільному введенні цих збудників виявляється пригнічення синтезу ІФН- γ та ІЛ-8 [120, 145].

Система гемокоагуляції і фібринолізу відіграє важливу роль у патогенезі пневмонії. Доведено, що посилення гемокоагулюючої і пригнічення фібринолітичної активності сприяє обмеженню зони запалення. Виявлено, що порушення балансу між утворенням фібрину та його руйнуванням призводять до розвитку ускладнень (переважання процесів розчинення та елімінації фібрину) і викликають деструкцію легеневої тканини, кровохаркання, легеневу кровотечу, поширення запального інфільтрату [70, 83].

Разом з тим у процесі формування розвитку пневмонії важливу роль відіграє підвищення проникності капілярів та лізосомних мембран, які виникають під дією бактеріальних токсинів, що активізують лізосомальні ферменти. Велика кількість ферментів лізосомального походження утворюється на початку запалення і джерелом їх служать нейтрофільні лейкоцити, фагоцити і клітини пошкоджених тканин [77, 83].

Як відомо, що ПОЛ і протеоліз є одними з універсальних механізмів ушкодження клітин. Зростання процесів ліпопероксидації – важливий компонент ліпідного обміну, який впливає на різні ланки метаболізму [40, 51, 77, 84, 106]. Вплив медіаторів запалення, бактеріальних токсинів, гіпоксія створює умови для підсилення окиснення ліпідів клітинних мембран, активізації ендогенних фосфоліпаз, зниження антиоксидантів. Порушення мембранних структур проявляється накопиченням токсичних продуктів перекисного окиснення ліпідів: перекисів, гідроперекисів, жирних кислот, лізофосфоліпідів. Виявлено прямий зв'язок та залежність між гостротою (тяжкістю) запальної реакції та ступенем активації ПОЛ – у першу чергу безпосередньо у вогнищі запалення, а також у гуморальних середовищах організму – крові, плазмі, лімфі, спинномозковій рідині, куди ці продукти потрапляють вторинно із запального вогнища [23, 33, 42, 77, 83, 92, 143]. Відомо, що етіологія запалення, ділянка ураження та участь мікроорганізмів (асептичне або інфекційне запалення) відіграє лише другорядну роль – реакція активації ПОЛ завжди присутня. Підвищення продуктів ПОЛ є наслідком ланцюгової реакції вільнорадикального окиснення. Дані метаболіти діють на різні субстрати з наступним пошкодженням

білків і ліпідів біологічних мембран, інактивуванням ферментів, зміною структури макромолекул, порушенням цілості клітин і внутрішньоклітинних органел. Також доцільно підкреслити, що ступінь активізації ПОЛ при запальних захворюваннях проявляється зростанням кількості первинних продуктів ПОЛ (гідропероксидів, вільних радикалів, ліпідних пероксидів) це вказує на гостроту та тяжкість запалення [23, 42, 34, 70, 83, 142, 180]. На сьогодні доведено, що продукти ПОЛ значно знижують активність основного інгібітора протеаз – $\alpha 1$ – антитрипсину і тим самим активізують протеолітичні процеси [70, 77, 92, 102]. Регуляція ПОЛ за фізіологічних умов здійснюється антиоксидантною системою, які складаються з ферментативної і неферментативної ланок. Відомо, що ранній період розвитку запального процесу характеризується реактивним компенсаторним збільшенням антиоксидантної активності, вмістом відновленого глутатіону та інших ендогенних антиоксидантів, який змінюється їх зниженням у разі довготривалого запалення. Зазначено, що у вогнищі запалення відбувається універсальна вільнорадикальна реакція, яка проявляється підвищенням окисного потенціалу та підсиленням перекисного окиснення ліпідів. Даний процес відбувається у всіх біологічних мембранах і відіграє суттєву роль при збереженні внутрішньоклітинного гомеостазу [12, 22, 77]. Це ще раз підкреслює універсальність реакції активації ПОЛ як патогенетичної ланки стресу, одним з видів якого є запалення. При цьому виявлена, активізація ПОЛ і висока активність протеолізу на тлі пригнічення АОС і інгібіторів протеаз.

Як зазначають ряд науковців, що в патогенезі розвитку пневмонії одним з провідних факторів є дисбаланс протеїназ і їх інгібіторів, а також оксидативний стрес, які вважаються ключовими факторами, що призводять до руйнування тканин легень [9, 15, 36, 83, 92, 102, 145, 150]. Вчені стверджують, що протеоліз тісно поєднаний із захисними системами організму – зсідання крові, фібриноліз, кініногенез, імунні реакції, створення біологічно-активних пептидів і гормонів, тощо. За умов формування патології порушується рівновага між ферментами та їх інгібіторами, що призводить до розвитку запальних, алергічних реакцій [54, 55, 56, 70, 77, 83].

Цілий ряд досліджень вказують на важливу роль NO в механізмах розвитку пневмонії, який є важливим біологічним медіатором фізіологічних процесів організму людини [54, 92, 124]. Оксид азоту вільно може проникати через біологічні мембрани і легко реагувати з іншими молекулами. Відомо, що NO бере участь у реалізації численних як фізіологічних, так і патологічних процесів у людському організмі. Здебільшого доведено, що фізіологічні та патологічні ефекти оксиду азоту проявляється одночасно [9, 15, 17, 25, 77, 83, 92, 124].

Відомо, що конститутивна NOS (сNOS) постійно знаходиться у цитоплазмі клітин. Її інактивація переважно проходить при низьких концентраціях вільного кальцію. С-NOS-основний фактор захисту організму від інфекції, ішемії, збільшеного тромбоутворення та багатьох інших пошкоджень, а NO, який синтезується під впливом с-NOS є виконавцем фізіологічних відповідей в організмі. Індуцибельна NOS (і-NOS) не завжди є присутньою в клітинах. Вона не працює постійно як с-NOS, а синтезується тільки при патологічних станах під впливом ендотоксинів, цитокінів та активує при цьому процеси перекисного окислення ліпідів. і-NOS забезпечує тривале виділення NO судинним ендотелієм, а NO захищає (неспецифічно) організм від бактерій, вірусів, ракових клітин або самотійно, або разом з іншими високоактивними вільними радикалами посилює розвиток низки патологічних процесів [9, 25, 77, 92, 124, 151, 152]. Відомо, що вміст NO залежить від кліренсу в альвеолах, причому в різних респіраційних відділах його кількість неоднакова: в носовій порожнині, в носоглотці та у навколоносових пазухах кількість газу значно вища, ніж в інших дихальних відділах. Близько 50-70 % оксиду азоту, синтезованого в носовій порожнині, самопоглинається і потрапляє у легені [9, 15, 17, 25, 77, 92, 101].

Відомо, що NO – є важливим медіатором дихальної системи. На синтез NO у дихальній системі впливають цитокіни та ендотоксини, в результаті дії яких пригнічується активність с-NOS та активність розчинної гуанілатциклази, що приводить до зменшення продукції ц-ГМФ, збільшення внутрішньоклітинного вмісту кальцію та веде, відповідно, до спазму дихальних шляхів [9, 15, 70, 83, 101, 124].

У дихальних шляхах виявлено три типи NOS: i- NOS, c- NOS та e- NOS. NO продукується c- NOS та i- NOS. C- NOS локалізується в ендотелії легеневих судин та епітеліальних клітинах, а i- NOS знаходиться в епітелії дихальних шляхів, у запальних та імунокомпетентних клітинах (макрофагах, нейтрофілах, опасистих клітинах), в ендотелії і міоцитах. Завдяки i- NO за фізіологічних умов, який синтезується c-NOS підтримується тканинна рівновага між його синтезом і перетворенням у метаболіти. На відміну від цього, NO, який синтезується i-NOS, посилює запальні зміни в дихальних шляхах [9, 17, 36, 65, 101, 102].

За умов розвитку пневмонії, активується iNOS і накопичується надлишок NO у видихаючому повітрі, що спричиняє збільшення його продуктів метаболізму у конденсаті повітря, що видихається, а саме – пероксинітритного аніону пероксинітритної кислоти, який утворює гідроксильні радикали. Нагромадження токсичних вільних радикалів у легенях викликає реакцію переокислення ліпідів у клітинних мембранах, посилення та поширення запального процесу у дихальних шляхах внаслідок збільшеної проникності судин. Стимуляція процесів перекисного окислення ліпідів NO бере участь в утворенні вільних радикалів, які токсично пошкоджують дихальні шляхи і відповідно посилюють запалення у бронхолегеневій системі [9, 15, 17, 25, 65, 70, 101].

Підсумовуючи описане можна констатувати, що збільшення продукції NO, має важливе адаптативне значення для організму, проте може перетворюватись із ланки адаптації в патогенетичну і стати важливим елементом у механізмі формування запальних процесів у дихальній системі.

1.3. Характеристика корвітину

Нами був застосований препарат кверцетин (корвітин) при експериментальній пневмонії поєднаної з АПМ, який вводили внутрішньоочеревинно у дозі 40 мг/кг 1 раз на добу впродовж 9 днів з 6-ої по 14-у доби експерименту, щоденно, що виробляється Борщагівським фармацевтичним заводом з метою корекції порушених метаболічних і імунних

процесів, базуючись тому, що цей засіб є рослинного походження, який має антиоксидантну, імуномодулюючу, протизапальну, кардіопротекторну властивість.

Кверцетин (Корвітин), завдяки своїй біохімічній структурі антиоксидантних властивостях є найефективнішим поглиначем вільних радикалів сімейства флавоноїдів містить три бензольних кільця і п'ять ОН-груп у положеннях 3, 3', 5, 7 і 4', подвійний зв'язок між 2 та 3 атомами вуглецю та карбонільну групу четвертого атома вуглецю. Наявність катехолової групи кільця В і група ОН в положенні 3 кільця А найбільшою сприяють антиоксидантним властивостям кверцетину, який полягає в поглинанні вільних радикалів, таких як гідроксильні радикали, супероксид-аніон, пероксид [21, 47, 71, 72, 105, 108, 129, 140].

Відомо з літератури, що це потужний антиоксидант через те, що він блокує вільні радикали як ендогенного, так і екзогенного походження, шляхом гальмування вільно радикальної ліпопероксидації мембран, інгібуючи ключовий фермент метаболізму арахідонової кислоти – 5-ліпоксигеназу [6, 7, 22, 73, 105].

Корвітин підвищує експресії глутатіонтрансферази, необхідної для відновлення глутатіону, та альдокеторедуктази. Це забезпечує відновлення фенолів та альдегідів до спиртів у структурі простагландинів, таким чином зменшуючи вираженість їх прозапальних ефектів, а також необхідна для синтезу стероїдних гормонів. Цей препарат зі своїми О-метильованими похідними зменшує внутрішньоклітинний синтез активних форм кисню, являючись єдиним біофлавоноїдом, здатним знешкоджувати пероксид водню. Речовина має здатність зв'язувати Fe^{2+} кверцетин зменшує вираженість Fe^{2+} -індукованого перекисного окислення ліпідів, протидіючи подальшому утворенню продуктів ліпопероксидації [6, 21, 22, 58, 71, 105, 108, 149].

Його антиоксидантна властивість спричинена нейтралізацією вільних радикалів (-ОН та $-O_2$) – активних форм кисню (АФК). Він знешкоджує продукти пероксидації в клітині, захищає біліпідний шар клітинних мембран. Варто зазначити, що блокування флавоноїдами вільної ліпопероксидації мембран

пов'язане з можливістю проникати крізь ліпідний шар. Крім цього, високий антиоксидантний потенціал даного препарату обумовлений здатністю підвищувати активність ферментів власного АОЗ [7, 21, 47, 58, 59, 73, 105].

Важливе значення у кверцетин-індукованому антиоксидантному захисті зміна активності антиоксидантних ферментів, активації експресії генів, пов'язаних із сигнальними шляхами РІЗК/РКВ. А саме, окрім видалення вільних радикалів, захисний вплив доповнюється підвищенням рівня експресії ендогенних антиоксидантних ферментів, таких як Cu/Zn-вмісної супероксиддисмутази, Mn-вмісної супероксиддисмутази, каталази, і глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази, глутатіону, глутатіон-S-трансфераза, гемоксигенази-1, яка здійснює свої захисні властивості в тому числі завдяки здатності відігравати роль у пригніченні активності NF-κB. Це в результаті призводить зменшення вмісту продуктів вільнорадикального окиснення (ДК, МДА) [6, 21, 22, 43, 58, 71, 105, 106, 108, 128].

Під дією цього препарату відбувається місцевий захист клітин головного мозку від вільнорадикального окиснення внаслідок збільшення експресії параоксонази 2 (PNO2), яка, функціонуючи в мітохондріях нейронів та клітин астроглії. Це сприяє зниженню пошкоджень нейронів зростання експресії глутатіонсинтетази і глутамат-цистеїнової лігази [7, 21, 43, 71, 72, 110]. Крім цього кверцетин здатний до модулювання процесів вільнорадикального окиснення, так як за високих концентрацій визначались його прооксидантні властивості через підвищення інтенсивності клітинного дихання в мітохондріях і, відповідно, полегшення умов для вивільнення супероксид-аніону [6, 22, 58, 59, 72, 105].

У разі використання кверцетину суттєво покращуються показники імунітету: підвищується кількість Т-лімфоцитів, число циркулюючих Т-хелперів/індукторів (CD4), нормалізується їх популяційний склад, підвищується фагоцитарна активність нейтрофільних гранулоцитів, знижується рівень ЦІК [6, 7, 22, 71, 72, 105, 110, 129, 131].

Цей препарат суттєво знижує специфічну і неспецифічну реактивність

бронхів, має імунорегулюючу дію – поліпшує функцію субпопуляцій клітин системи імунітету (фагоцитозу, Т і В-лімфоцитів) [6, 7, 21, 22, 43, 73].

Відомо, що кверцетин регулює експресію генів цитокінів, молекул адгезії, ферментів. Це забезпечує продукування медіаторів запалення, про- і антиапоптотичні білків, ферментів антиоксидантних систем, рецепторів андрогенів (AR), протеїнкінази В (АКТ), рецептора інсуліноподібного фактора росту 1 (IGFIR), судинно-ендотеліального фактора росту (VEGF) [21, 43, 47, 59, 71, 110, 159].

Кверцетин зменшує вироблення прозапальних цитокінів та хемокінів, яке базується на послабленні активації NF-κB. Також він зменшує макрофагальну інфільтрацію, експресії молекул головного комплексу гістосумісності (МНС) класу II, антигенспецифічної активації Т-клітин, підвищує генерацію регуляторних Т-клітин, активацію системи комплементу, продукції гістаміну та дегрануляції тканинних базофілів, адгезію лейкоцитів, проліферації Т-лімфоцитів CD4+, активації та проліферації Th-2 і цитокінів Th-2 (IL-4, IL-5, IL-13), активності Т-цитотоксичних клітин, вивільнення IgE, IgG1 В-клітинами [22, 71, 72, 159].

Кверцетин має антигістамінну дію, яка проявляється в гальмуванні синтезу ферментів, відповідальних за дегрануляцію опасистих клітин і викид гістаміну [6, 7, 72, 105]. Володіючи протизапальною та протинабряковою дією, кверцетин бере участь в обмінних процесах, нормалізує реологічні властивості крові, сприяє усуненню сладж-синдрому. Корвітин виявляє імуномодельючі властивості [6, 7, 16, 21, 71, 108, 110].

Кверцетин реалізує свої фармакологічні ефекти через модулювання функціонування клітинних сигнальних шляхів: тирозинкіназного протеїнкінази С, мітоген-активованої протеїнкінази, фосфоінозитид-3-кінази, NF-κB, а також індукує зупинку клітинного циклу в фазі G2 та G0/G1, фазові зміни G0/G1. Це явище може бути пов'язане зі зниженням експресії циклінів Е і D, білка циклінзалежної кінази-2 (Cdk-2), що забезпечує перехід з G1 в S-фазу клітинного поділу, внаслідок чого можлива зупинка клітинного поділу в G1, і підвищеною

експресією p21 (внутрішньоклітинний інгібітор циклін-залежної кінази-1A) і p27 (інгібітор циклін-залежної кінази-1B), що здійснюють зупинку клітинного поділу у фазі G1, регуляцією шляхів, пов'язаних із p53, що сприяє зупинці клітинного поділу та послаблення експресії генів білків родини Bcl-2, пригнічує шлях фосфоінозитид-3-кінази мішені рапаміцину PI3K/АКТ/mTOR з подальшим інгібуванням p70 S6 кінази, що призводить до супресії трансляції мРНК і зупинки клітинного поділу в G1, а також інгібування шляху STAT3, що обумовлює спадання інтенсивності транскрипції та трансляції, зупинку клітинного циклу в стадії G2/M, зменшує диференціювання наївних CD4⁺ в Т-хелпери Th17, обумовлює зниження чутливості до ІЛ-6 [43, 47, 59, 71, 72, 73, 182, 183].

Корвітин використовують, як додатковий препарат для лікування онкологічних захворювань, а також зменшення агресивного ураження тканини при запаленні через перепрограмування загибелі клітини зі шляху некрозу на шлях апоптозу [21, 43, 71, 72, 73, 108].

Кверцетин виявляє протизапальну дію внаслідок блокади ліпооксигеназного шляху метаболізму арахідонової кислоти, зниженню синтезу лейкотрієнів, серотоніну і інших медіаторів запалення [6, 7, 72].

Даний засіб виявляє антиульцерову дію, пов'язану із застосуванням протизапальних засобів, а також має радіопротекторну активність (після рентген- і гамма-опроміненнь) [6, 7, 22, 43, 71].

Препарат корвітин виявляє кардіопротекторні властивості, що пов'язані з підвищенням енергетичного забезпечення кардіоміоцитів завдяки антиоксидантному впливу та поліпшення кровообігу [6, 21, 59, 73, 108].

Відомо з літератури, що кверцетин використовують для лікування багатьох захворювань в клініці внутрішніх хвороб. Зокрема, ішемічній хворобі серця, інфаркті міокарда, серцевій недостатності, нейро-циркуляторній дистонії, раку сечового міхура, токсичних гепатитах, травмах, виразкових колітах, при бронхіальній астмі, алергічних стоматитах, отруєннях блідою поганкою, геморагічних діатезах, варикозному розширенні вен [6, 7, 43, 71].

Корвітин має регенеративні властивості. Це полягає у тому, що він прискорює загоєння ран. Крім цього впливає на процеси ремоделювання кісткової тканини, проявляє стійку імуномодулюючу активність [6, 7, 22].

Цей флаваноїд має естрогеноподібні властивості, (вплив на пролінгідроксилазу, пригнічення фактора некрозу пухлин та синтез інтерлейкінів), а також має проостеокластні ефекти [6, 43, 59, 71, 108].

Кверцетин має діуретичні, спазмолітичні, антисклеротичні властивості, здатний нормалізувати АТ і стимулювати вивільнення інсуліну, прискорювати агрегацію тромбоцитів, пригнічувати синтез тромбоксану.

Кверцетин нормалізує передачу нервових імпульсів, пам'ять і когнітивні процеси завдяки запобіганню деградації ацетилхоліну шляхом інгібуванню бутирилхолінестерази (BchE), ацетилхолінестерази (AChE) і секретази, пригнічує експресію генів інших ферментів [7, 22, 43, 59, 71, 108].

Корвітин викликає зростання вмісту кальцію в цитоплазмі, одночасно запобігаючи реалізації кальцієвих механізмів пошкодження клітини, а за рахунок інгібування припливу кальцію та фосфопротеїнкінази C протидіє дегрануляції тканинних базофілів, вивільненню ними гістаміну та триптази. Також цей засіб інгібує індуковану тромбіном (пригнічення тромбіну кверцетином агрегацію тромбоцитів шляхом порушення секреції серотоніну і мобілізації кальцію, зниження інтенсивності наростання його цитоплазматичної концентрації [71, 72].

Корвітин виявляє противірусні властивості шляхом його здатності пригнічувати полімеразу, зворотну транскриптазу, протеазу, ДНК-гіразу та зв'язуватися з білками вірусного капсиду, кверцетин пригнічує ріст грибів та патогенних бактерій. Противірусний ефект його зумовлений стимулюванням експресії генів і продукції інтерферону- γ (IFN- γ) Т-хелперами 1 типу (Th-1) [6, 21, 43, 59, 72, 73, 110].

Отже, проведений нами аналіз літератури щодо механізмів дії кверцетину можна стверджувати, що цей засіб має імуномодулюючу, антиоксидантну, антигістамінну, протизапальну дію, виявляє кардіопротекторну, гепатопротекторну, церебропротекторну властивість і представляє особливу

цінність у застосуванні його зараз і в перспективі, як в експерименті так, і клініці за умов розвитку ішемічної хвороби серця та пневмонії.

Таким чином, на підставі літературного аналізу, можна зробити висновок про те, що головними ланками патогенезу розвитку пневмонії та ІХС є: дисбаланс між мікро- і макроорганізмами, порушення функціонування основних ланок імунної системи – гуморальної та клітинної, фагоцитозу, зсув балансу прозапальних і протизапальних цитокінів, порушення в системі антиоксидантного захисту і ліпопероксидації з формуванням оксидантного стресу, пошкодження мікроциркуляторного русла та зсув протеолітично-інгібіторної систем, участь системи оксиду азоту.

Не дивлячись на значні досягнення щодо вивчення патогенезу ІХС та пневмонії, на сьогодні до кінця є не з'ясовані, як впливає запальний процес в легенях поєднаний з адреналіновим пошкодженням міокарда на цитокіновий статус, імунну систему, ПІС, ПОЛ і АОС, систему оксиду азоту в крові і в нирках в динаміці їх розвитку та не доведено особливості їх порушень в механізмах пошкодження нирок за цих умов. Тому тема дисертаційної роботи є актуальною, гострою, що потребує проведення подальших, як експериментальних так і клінічних досліджень.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У другому розділі дисертаційної роботи відповідно до мети і завдань дослідження описано відбір тварин, розподіл їх на групи, дизайн дослідження, моделювання хвороб, одержання гомогенатів нирок у морських свинок. Також детально висвітлено сучасні методи дослідження (імунологічні, імуноферментні, біохімічні і статистичні), які були застосовані під час виконання дисертаційної роботи.

2.1. Відбір і характеристика експериментальних груп тварин, опис дизайну дослідження

Загальноприйнятим вважається, що морські свинки служать класичним об'єктом для моделювання АПМ, запальних і алергічних процесів [6, 7]. Тому нами були вибрані ці тварини для відтворення експериментальної пневмонії (ЕП) і адреналінового пошкодження міокарда (АПМ).

У відповідності до мети і завдань дисертаційної роботи були проведені імунологічні, імуноферментні та біохімічні дослідження на 128 морських свинок (самцях), масою тіла 180-210 г. Зазначені вище тварини утримувалися на стандартному раціоні віварію Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Усі тварини (морські свинки) розподіляли на чотирнадцять груп:

перша – інтактні тварини – контроль (10 морських свинок);

друга, третя, четверта і п'ята (дослідна) групи – склалися з 36 тварин (по 9 морських свинок у кожній) – тварини з адреналіновим пошкодженням міокарда (АПМ) відповідно на 1-у, 3-ю, 6-у і 14-у доби експерименту;

шоста, сьома, восьма і дев'ята (дослідна) групи – по 36 тварин – тварини з експериментальною пневмонією (ЕП) відповідно на 1-у, 3-ю, 6-у і 14-у доби експерименту;

десята, одинадцята, дванадцята, тринадцята (дослідна) групи - (36 тварин) морські свинки поєднані з ЕП і АПМ відповідно на 1-у, 3-ю, 6-у і 14-у доби експерименту (до лікування);

чотирнадцята група (10 тварин) – морські свинки з ЕП асоційовані АПМ після лікування корвітином, який вводили впродовж 9 днів з 6-ої по 14-у доби експерименту внутрішньоочеревинно дозі 40 мг/кг 1 раз на добу.

Усі дослідження та заплановані експерименти були проведені у відповідності до принципів біоетики з положенням Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин. Даних тварин яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986), Директиви Ради Європи 86/609/ЕЕС (1986), Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження», загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (2001). Також це підтверджено заключенням членів комісії з біоетики ЛНМУ ім. Д. Галицького (протокол №1 від 23.01.2023 р., протокол № 10 від 18.11.2024 р.).

Дизайн досліджень складався з п'яти періодів: Перший період полягав у тому, що проводили забір крові, тканин нирок для здійснення імунологічних, імуноферментних і біохімічних досліджень в інтактних морських свинок самців (контрольна група) шляхом декапітації під впливом хлороформного наркозу.

Другий період експерименту включав моделювання ЕП і виведення морських свинок з експерименту враховуючи стадії гострої запальної відповіді на 1-у (інкубація), 3-ю добу (розвиток хвороби), 6-у добу (розпал хвороби) і 14-у доби (реконвалесценція), шляхом декапітації, під впливом хлороформного наркозу. Забирали кров, тканини нирок на 1-у, 3-ю, 6-у і 14-у доби експерименту для проведення біохімічних, імунологічних та імуноферментних досліджень.

Третій період експерименту полягав у тому, що у морських свинок моделювали АПМ і виводили тварин з експерименту беручи до уваги стадії його перебігу ішемії, некрозу, формуванню рубця в тканинах міокарда – на 1-у, 3-ю добу, 6-а доба і 14-а доба, шляхом декапітації під впливом хлороформного

наркозу і забирали кров, тканини нирок для проведення імунологічних, імуноферментних і біохімічних досліджень.

Були обрані фіксовані доби для дослідження, які базувалися на тому, що через добу відзначається тенденція до зростання кількості некротизованих кардіоміоцитів, збільшується парез судин [6, 7, 93, 94, 95], наростає інтенсивність дифузної клітинної інфільтрації строми [6, 38, 96, 97], зростає об'ємна щільність колагену (більше лівого шлуночка), знижується об'ємна щільність кардіоміоцитів [6, 95]. На 3-ю добу відмічається нейтрофільна інфільтрація строми, поява лейкоцитарного валу навколо некротизованих зон [6, 94, 97]. Через 6-у діб виявляються ознаки репаративного процесу, через 14 діб – вогнищево-дифузної проліферації фібробластів [6, 7, 95, 97].

Четвертий період експерименту характеризувався тим, що у морських свинок одночасно моделювали ЕП і АПМ (до фармакологічної корекції) і виводили тварин з експерименту на 1-у, 3-ю, 6-у і 14-у доби шляхом декапітації під впливом хлороформного наркозу та забирали кров, тканини нирок для здійснення біохімічних, імунологічних, імуноферментних досліджень.

П'ятий період експерименту полягав у тому, що у морських свинок одночасно відтворювали ЕП і АПМ і проводили фармакокорекцію. Шляхом застосування корвітину у дозі 40 мг/кг маси в/о 1 раз на добу впродовж 9 діб з 6-ої по 14-у доби. Власне в цей період були найбільше виражені порушення метаболічних і імунних процесів. Ми застосовували таку дозу препарату використовуючи роботу Бородача В.О., який застосовував при АПМ і ЕП, а також на підставі, що цей засіб застосовується в клініці внутрішніх хвороб - при ішемічній хворобі серця та в експерименті при АПМ [6, 7].

Відповідно до мети дослідження вивчення механізмів пошкодження нирок при ЕП і АПМ брали до уваги нижче наведену інформацію, яка полягала в тому, що для нирок характерне інтенсивне кровопостачання, високий рівень енергетичного обміну, який визначає підвищену чутливість ниркової паренхіми до порушення кровообігу, метаболізму, гіпоксії, дії різних токсичних речовин і

навіть лікарських засобів з розвитком патологічних синдромів, зокрема гострої і хронічної ниркової недостатності [37, 60, 61, 89].

Крім цього відомо, що нирки - не лише екскреторний, а й важливий інкреторний орган, який бере участь у регуляції судинного тону (ренін-ангіотензинова система, простагландини, калікреїн-кінінова система), еритропоезу (еритропоетин, інгібітор еритропоезу) і згортання крові (урокиназа). З цим пов'язані висока частота розвитку і тяжкість гіпертензивного й анемічного синдромів на тлі патології нирок.[37, 38].

2.2. Експериментальні моделі хвороби

2.2.1 Методика відтворення експериментальної пневмонії

Експериментальну пневмонію (ЕП) викликали за методом Шляпнікова В.Н., Солодова Т.Л. [24] шляхом інтраназального зараження тварин над металевим підносом вкритим декількома шарами марлі, яка була оброблена дезінфікуючим розчином. За дві доби до постановки експерименту культуру *Staphylococcus aureus* переносили на чашки з м'ясо-пептонним агаром для одержання ізольованих колоній. Згодом через 18 годин інкубації посівів при 37 °С з чашки в пробірки зі скошеним агаром відсівали декілька колоній *Staphylococcus aureus*. Використовувалися для зараження колонії *Staphylococcus aureus* у типовій 5-формі (з гладкою поверхнею).

Тварин наркотизували хлороформом в ексикаторі. За умови, якщо мускулатура тварин була розслабленою, а дихання ставало частим та поверхневим, тоді їх клали черевом догори. Тварині під час вдиху вводили піпеткою інтраназально 0,5 мл. матеріалу, який містив *Staphylococcus aureus*. Для найкращої аспірації введеного матеріалу тварин клали на спину, після чого впродовж декількох хвилин вони виходили з наркотичного стану.

2.2.2. Методика відтворення адреналінового пошкодження міокарда

Гостре адреналінове пошкодження міокарда моделювали шляхом одноразового внутрішньом'язово введення 0,18% розчину адреналіну гідротартрату («Дарниця», Україна) з розрахунком 0,5 мг/кг за методом Маркової О.О [44].

2.3. Одержання гомогенатів нирок у морських свинок

Насамперед у тварин забирали шматочки нирок шляхом висічення через 1-2 хв. після забою тварин. Впродовж 5-6 хв. їх зберігали на льоді, а згодом обезкровлювали багаторазовою перфузією охолодженим фізіологічним розчином за допомогою голки і шприца та подрібнювали ножицями. Потім зважували і поміщали у скляний гомогенізатор з тефлоновим пестиком (МРТУ-42 1505-63). Склянку гомогенізатора ставили у мішечок з кусочками льоду під час гомогенізації для попередження нагрівання. Здійснювали гомогенізацію тканини впродовж 30-50 с, роблячи декілька рухів склянкою вгору і вниз; швидкість обертання пестика 800-900 об./хв. Для гомогенізації середовищем був охолоджений 5 мМ трис-HCL буфер рН 7,4, і кінцеве розведення гомогенату становило 1:9. Одержаний тканинний гомогенат фільтрували через 2 шари марлі в пробірки для центрифугування. Для одержання щільної фракції і видалення не повністю зруйнованих клітин і ядер гомогенат центрифугували 10 хв при 3000 g ($t=0\pm 2$). Використовували надосадову рідину під час досліджень [67].

2.4. Методи досліджень

2.4.1. Імунологічні методи

Оцінювали стан гуморального та клітинного імунітету в інтактних тварин (контроль) за вмістом ЦІК, Т-лімфоцитів, В-лімфоцитів в крові та в динаміці розвитку АПМ і ЕП, окремо та в їх поєднанні на 1-у, 3-ю, 6-у і 14-у доби до та після застосування корвітину.

2.4.1.1. Визначення імунних комплексів у крові. За методом Haskova V., Kaslik J., Math J., Matejckova M. [138] кількісне визначення циркулюючих імунних комплексів за допомогою ПЕГІКЕМ-тесту.

Цей метод базувався на преципітації ЦІК за умови невеликих концентрацій поліетиленгліколю (ПЕГ) молекулярною масою 600, який сприяє неспецифічній агрегації ЦІК, створюючи хороші умови для преципітації середовища. За умови використання ПЕГ низької концентрації (2-3 %) преципітують лише великі ЦІК, а за умови 6-8 % концентрації преципітують ЦІК великих та малих розмірів. Застосовували три концентрації ПЕГ: 3,5% – для преципітації великих ЦІК; 5,25 % – для преципітації великих та середніх ЦІК; 7 % – для преципітації великих, середніх і малих ЦІК.

Досліджували оптичну щільність зразків на спектрофотометрі в кюветах 1 × 1 при довжині хвилі 450 нм. Виразали одержаний результат в одиницях оптичної щільності.

2.4.1.2. Визначення Е-РОК (Т-лімфоцитів) у крові здійснювали за методом Чернушенко Е.Ф., Когосова Л.С. [109]. Спочатку виділяли лімфоцити крові. У пробірки, які містять гепарин (125 ОД на 1 мл рідини), додавали 2-3 мл крові. Кров розводили у 2 рази розчином Хенкса, забуференим тріс-буфером до рН 7,3 (або середовищем № 199). Нашаровували 2 мл розведеної крові на 1,5 мл суміші філол-контрасної речовини. Впродовж 30 хв. пробірки центрифугували при температурі +20 °С, з інтерфазною силою 400 g (радіус центрифуги виміряли від її центра до межі дотикання суміші філол-гіпак з кров'ю). Застосовували нормограми для підрахунку числа обертів. Після центрифугування еритроцити з гранулоцитами осідали на дно, а зверху залишалися моноклеарні клітини, які збирали пастерівською піпеткою з інтерфазною поверхні та нижче, одержану суспензію розводили у 5 разів середовищем № 199 і подвійну відливали (при 1500 обертах за хвилину – 10 хв.). Підраховували кількість клітин у камері Горяєва і доводили кількість лімфоцитів до 1 млн в 1 мл.

Одночасно підготовляли суміш баранячих еритроцитів. Для цього еритроцити тричі промивали забуференим розчином Хенкса або середовищем № 199 до одержання прозорої надосадної рідини (шляхом повторного центрифугування по 15-20 хв. при 1500 об./хв. і 1 раз по 10 хв. при 2000 об./хв.). Підготовляли 1 % суміш еритроцитів з осадку еритроцитів, який приймали за 100 %. Розводили еритроцити до концентрації 1:30 по відношенню до лімфоцитів (0,3-0,4 % суміші). У відалевські пробірки змішували 0,2 мл суміші лімфоцитів, 0,2 мл (0,3-0,4 %) суміші еритроцитів і 0,1 мл з буферного розчину Хенкса (або середовища № 199) і 0,1 мл сироватки великої рогатої худоби. Суміш центрифугували при 1000 об./хв. 5 хв. поміщали спочатку в термостат на 30 хв. при 37° С і потім на 18-20 хв. в холодильник. Потім, обережно повертаючи пробірку між долонями, переводили клітини до суміші і рахували у камері Горяєва. Підраховували 200 лімфоцитів і визначали процентне співвідношення клітин, які зв'язали 3 і більше еритроцити. Обліковували Т-клітини, які спонтанно утворили розетки в процентних (по відношенню до усіх лімфоцитів) показниках.

2.4.1.3. Визначали вміст В-лімфоцитів в крові за методом Чернушенко Е.Ф., Когосова Л.С. [109]. З цією метою спочатку еритроцити барана два рази відливали середовищем № 199 (5 хв. при 1000 об./хв.), потім підготовляли 2,5 % суміш еритроцитів у середовищі №199. Згодом до 2 мл 2,5 % суміші еритроцитів барана додавали 2 мл кроликової гемолітичної сироватки в субгемолітичній дозі. Суміш інкубували 30 хв. при температурі 37° С, струшували через кожні 5-7 хв. Після інкубації еритроцити відмивали два рази середовищем №199 (5 хв. при 1000 об./хв.). Додавали до осаду 2 мл середовища №199 і 2 мл комплементу (свіжа мишина сироватка) у розведенні 1:10. Інкубували суміш впродовж 30 хв. при 37° С і обробляли антитілами та комплементами, еритроцити барана тричі відливали середовищем №199 (по 5 хв. при 1000 об./хв.). Тоді розводили еритроцити до концентрації 1:30 по відношенню до лімфоцитів (0,3-0,4 суміші). Далі методика виділення лімфоцитів, постановка реакції, підрахунок її була аналогічна до постановки реакції Е-РОК.

2.5. Імуноферментні методи

2.5.1. Визначення цитокінів проводили за допомогою твердофазного імуноферментного аналізу

Визначення вмісту цитокінів ФНП- α , ІЛ-6, ІЛ-10 в сироватці крові за проводили допомогою твердофазного імуноферментного методу з використанням біотинстрептавідинової системи, яка підвищує чутливість та специфічність імуноферментного методу. Використовували набір реактивів для кількісного імуноферментного аналізу (ELISA) відповідного цитокіну виробництва «Diasclone» (Франція). Цей аналіз проводили відповідно до доданої інструкції виробника.

Ключовий принцип методу полягає в тому, що один тип видоспецифічних моноклональних антитіл до відповідного цитокіну, імобілізований на мікропланшетах. Інший тип моноклональних антитіл до незалежного епітопу молекули відповідного цитокіну знаходиться у вигляді кон'югату з біотином. Індикаторним компонентом виступає кон'югат пероксидази хрому зі стрептавідином. Складовими цієї системи є біотин-низькомолекулярний водорозчинний вітамін (молекулярна маса 224 Д) та стрептавідин (білок з молекулярною масою 60.000, ізольований з бактерії *Streptomyces avidinii*). Стрептавідин містить 4 високоактивних центри до біотину. Завдяки тому, що одна молекула стрептавідину зв'язує 4 молекули біотину відбувається значне посилення реакції і це дозволяє визначити низькі концентрації цитокіну.

На першій стадії реакції мікропланшети, котрі покриті видоспецифічними моноклональними антитілами до цитокіну, інкубували при кімнатній температурі з стандартними пробами, контролем та зразками сироваток (тварин) та одночасно з біотиновим моноклональним антитілом, специфічним до відповідного цитокіну. Після інкубації незв'язане біотинове антитіло до відповідного цитокіну видаляли шляхом промивання лунок мікропланшет. Далі добавляли ензим (стрептавідин-пероксидазу) та проводили інкубацію при кімнатній температурі. Після інкубації та промивання лунок мікропланшет для

видалення незв'язаних частинок із взірців добавляли розчин субстрату, який реагує зі зв'язаним ензимом і призводить до розвитку забарвлення, інтенсивність якого прямо пропорційна концентрації цитокіну в зразку. Зупиняли реакцію додаванням у лунки мікропланшети сірчаної кислоти. Абсорбцію вимірювали спектрофотометрично при довжині хвилі 450 нм за допомогою імуноферментного аналізатора Stat Fax 303.

Значення концентрацій у досліджуваних пробах розраховували шляхом побудови графіка по калібровочній кривій залежності значень оптичної щільності від відомої концентрації цитокіну у калібровочних пробах. Якщо оптична щільність досліджуваної сироватки перевищувала аналогічну величину для стандарту з максимальною концентрацією, тоді проводили повторний аналіз, розвівши взірець в 10 разів.

2.6. Біохімічні методи

Оцінювали стан оксидантної і антиоксидантної системи в нирках за вмістом МДА, ДК та активністю СОД і КТ в інтактних тварин (контроль) та в динаміці формування АПМ та ЕП (1-у, 3-ю, 6-у і 14-у доби експерименту), до і після введення корвітину.

2.6.1. Визначення малонового діальдегіду проводили за методом [10]. Вносили у пробірку 0,5 мл гомогенату тканини та додавали 5,0 мл 20 % розчину фосфорно-вольфрамової кислоти, попередньо перемішували та залишали в холодильнику на 15 хв. Згодом центрифугували при температурі 4 °С 15 хв при 2500 об./хв. Потім зливали надосадну рідину, а до осаду додавали 2,0 мл дистильованої води, 1,0 мл 0,8 % розчину тіобарбітурової кислоти. При цьому ретельно перемішували, слідкуючи за рН суміші, герметично закривали корками та інкубували проби 60 хв на водяній бані при 100 °С. Потім пробірки охолоджували та центрифугували при 6000 об./хв протягом 10 хв. Оптичну густину реєстрували в центрифугаті на спектрофотометрі за умови довжини хвилі 535 та

580 нм для виключення оптичного поглинання забарвлених комплексів тіобарбітурової кислоти речовинами неліпідної природи.

Здійснювали розрахунок за такою формулою:

$$C = 0,21 + 26,5\Delta D, \quad (2.1)$$

де C – концентрація МДА в наномолях на 1 мл сироватки крові;

ΔD – показник $D_{535} - D_{580}$ в центрифугаті.

2.6.2. Визначення дієнових кон'югатів здійснювали за методом Гаврилова В.Б., Мишкорудной М.И [13]. До 0,2 мл гомогенату тканини додавали суміш 2,0 мл ізопропілового спирту та 2,0 мл гептану. Потім струшували впродовж 15 хв. Далі додавали 1,0 мл розчину хлористоводневої кислоти (рН 2,0) та 2,0 мл гептану. Знову струшували. Через 30 хв після відстоювання та розшарування фаз відбирали верхній гептановий шар, і в ньому визначали оптичну густину при довжині хвилі 233 нм проти контролю. Як контроль застосовували зразок, в якому замість гомогенату тканини є 0,2 мл води. Дієнові кон'югати виражали у нмоль/мл (г).

2.6.3. Визначення активності каталази (КТ) здійснювали за методом Holmes R., Masters C. [139]. Для цього спочатку підготовляли реакційну суміш таким чином: 1,9 мл 0,05 М фосфатного буфера (рН 8,0), 1,0 мл 30 мМ розчину пероксиду водню. До цієї суміші додавали 0,1 мл гомогенату тканини, струшували та через 15 хв визначали оптичну густину на спектрофотометрі в кюветі з довжиною оптичного шляху 10 мм проти води з інтервалом 60 с. Визначали активність каталази в м.о./мл (г).

2.6.4. Визначення активності супероксиддисмутази (СОД) здійснювали за методом Fried R. [132]. Для цього попередньо підготовляли реакційну суміш, змішуючи 1,2 мл 0,15 М фосфатного буфера (рН 7,8), 0,1 мл 0,16 мМ феназинметасульфату, 0,3 мл 0,61 мМ нітросинього тетразолію.

Пізніше вносили 0,3 мл досліджуваного гомогенату тканини до цієї суміші. Запускали реакцію шляхом додавання до реакційної суміші 0,2 мл 1 мМ розчину НАД⁺Н₂ струшували. Через 1 хв реакцію зупиняли 1,0 мл концентрованої оцтової кислоти. Оптичну густину визначали на спектрофотометрі при довжині хвилі 540 нм. Активність СОД була виражена в у.о./мл (г).

Оцінювали стан системи оксиду азоту за вмістом аргініну, сумарних продуктів NO і сумарної NO синтаз в тканинах нирок в інтактних тварин (контроль) та в динаміці розвитку АПМ і ЕП (1-у, 3-ю, 6-у і 14-у доби) до і після застосування корвітину.

2.6.5. Визначення сумарних продуктів оксиду азоту (нітрит і нітрат йонів) проводили у біологічних рідинах за методом Schmidt H.H. [177].

Вміст сумарних продуктів оксиду азоту визначали у досліджуваних біологічних зразках за допомогою реактиву Грісса спектрофотометруючи продукти фарбування при довжинах хвиль $\lambda = 550$ нм. Із вимірюваних значень оптичної густини знаходили середню величину та визначали вміст стабільних продуктів оксиду азоту, використовуючи заздалегідь побудовану калібрувальну криву.

Визначення концентрації сумарного метаболіту оксиду азоту проводили у гомогенаті тканин.

Спочатку 0,2 мл досліджуваної проби поміщали в центрифужну пробірку, додавали 0,2 мл 4 % розчину їдкого натрію та інкубували, перемішуючи, на бані з льодом впродовж 10 хв. Після цього додавали 0,4 мл дистильованої води та 1,2 мл 4 % розчину сірчанокислого цинку і витримували на водяній бані з льодом. Через 10 хв. центрифугували 20 хв. при температурі 0 – + 4 °С зі швидкістю 15000 об/хв. До 1,4 мл відібраного супернатанту додавали 1,4 мл реактиву Грісса (1:1) до складу якого входили: 0,1 % N – нафтилетилендіаміну гідрохлориду та 1 % сульфанілової кислоти, приготівлені на 5 % ортофосфорній кислоті (суміш зберігається не більше 12 год). Пробу з доданим реактивом поміщали на 15 хв.

в затемнене місце для розвитку забарвлення, потім вимірювали екстинкцію за допомогою спектрофотометра при λ - 550 нм. Контролем служить 8 % білковий розчин, оброблений за методикою досліду.

Здійснювали перерахунок за калібрувальним графіком, що одержаний стандартними розчинами із концентрацією сумарних метаболітів оксиду азоту від 1 до 250 мкмоль/л.

2.6.6. Визначення вільного аргініну здійснювали за методом [28]

Спочатку до 0,5 мл гомогенату тканини додавали 0,5 мл 5% розчину трихлороцтової кислоти (ТХО) і центрифугували 10 хв. При 3000 об./хв. Відбирали 0,5 мл супернатанту і додавали 1 мл 5% розчину NaOH, 0,05 мл 0,02% спиртового розчину α -нафтолу, 0,05 мл гіпобромідного реактиву, а також 0,2 мл 10% розчину сечовини і доводили дистильованою водою до 4 мл. Через 20 хв спектрофотометрували при λ - 500 нм. Дослідну пробу та контроль спектрофотометрували проти дистильованої води. Контроль містив ті ж реактиви, що й дослід, замість гомогенату тканини була внесена дистильована вода. Визначали концентрацію аргініну за побудованим калібрувальним графіком.

2.6.7. Визначення сумарної активності синтази оксиду азоту здійснювали за методом [103]

Сумарну активність синтази оксиду азоту визначали за інтенсивністю використання $\text{NADPH} \cdot \text{H}^+$ у реакційному середовищі, яке містило 0,6 мл 5 мМ KH_2PO_4 , 0,6 мл 1 мМ MgCl_2 , 0,6 мл 10 мМ CaCl_2 на Tris-HCl буфері $\text{pH}=7,4$, 0,6 мл 4 мМ водного розчину L-аргініну, 0,4 мл 1,0 мМ розчину $\text{NADPH} \cdot \text{H}^+$. Реакцію запускали додаванням 0,3 мл дослідного біоптату (гомогенат тканин, гемолізат еритроцитів) до реакційної суміші. Контрольна пробірка містила аналогічний набір реагентів, окрім розчину L-аргініну, замість якого додавали 0,6 мл

дистильованої води. Реакцію зупиняли додаванням 8 мМ р-ну HClO_4 до реакційної суміші.

Зниження екстинкції розчинів реєстрували при довжині хвилі 340 нм. Активність синтази оксиду азоту виражали в нмоль $\text{NADPH} \cdot \text{H}^+$, який оксинювався протягом 1 хвилини на 1 мг білка.

Розрахунок активності синтази оксиду азоту проводили за формулою.

$$X = \frac{\Delta E * P}{6,22 * a * b}$$

де ΔE – середнє значення зміни оптичної густини проби для довжини хвилі 340 нм за 1 хв;

P – кінцевий об'єм проби в кюветі, мл;

6,22 – мікромолярний коефіцієнт поглинання відновленої форми піридинових нуклеотидів для довжини хвилі 340 нм;

a – концентрація білка в пробі, г/л;

b – кількість внесеного екстракту, мл.

Стан протеолізу і антипротеазного потенціалу в нирках оцінювали за визначенням загальної протеолітичної активності, альфа-1 ІІІ, альфа-2-М в інтактних тварин (контроль) та в динаміці розвитку ЕП і АПМ (1-у, 3-ю, 6-у і 16-у доби) до та після застосування корвітину.

2.6.8. Визначення загальної протеолітичної активності здійснювали за методом Веремеєнко К.Н. [9]

Базовий принцип методики полягає в тому, що при інкубації білкових азосполук у присутності активаторів та інгібіторів протеолізу, що містяться у тканинах, відбувається лізис азоальбуміну (розпад низькомолекулярних протеїнів), азоказеїну (розпад високомолекулярних протеїнів) та азоколагену (колагеноліз), інтенсивність якого оцінювали за ступенем забарвлення інкубаційного середовища на спектрофотометрі при довжині хвилі 440 нм.

Для визначення протеолітичної активності у пробірку, яка містила 1,5 мл боратного буфера і 1 мг азоальбуміну (азоказеїну або азоколагену) додавали 0,5 мл гомогенату тканини, інкубували при 37 °C протягом 15 хв. Додавали 2 мл дистильованої води у всі пробірки і залужували середовище 5 моль/л розчином NaOH (50 мкл). Фільтрували вміст пробірок для видалення непрореагованої азосполуки і визначали екстинкцію розчинів на спектрофотометрі ($\lambda=440$ нм) проти розчину порівняння (0,5 мл дистильованої води, 1,5 мл боратного буфера, 1 мг азосполуки). Протеолітичну активність визначали в одиницях екстинкції на 1 мл гомогенату тканини або мг на 1 год.

2.6.9. Визначення вмісту $\alpha 1$ - інгібітора протеаз ($\alpha 1$ - ІП) проводилось за методом Веремеєнко К.Н. [9]

Основний принцип методу базувався на тому, що $\alpha 1$ - ІП гомогенату тканини пригнічує гідроліз трипсином N-бензоїл-DL-аргінін-пара-нітроаніліду (БАПНА). Водночас трипсин у комплексі з $\alpha 2$ - М здатний розщеплювати БАПНА. Спочатку до гомогенату тканини додавали надлишкові по відношенню до усіх трипсинзв'язуючих білків кількості трипсину. Визначали вміст $\alpha 1$ - ІП за різницею між відомою кількістю трипсину і ферментом, який залишився після його взаємодії з інгібіторами гомогенату тканини.

До 0,4 мл гомогенату тканини, розведеної в 100 разів, додавали 0,2 мл трипсину (10 мкг), витримували впродовж 15 хв., при температурі 20 °C та доводили об'єм проби до 1 мл фосфатним буфером. Згодом додавали 3,2 мл 0,001 М розчин БАПНА та розташовували у термостаті при температурі 35 °C протягом 20 хв. Зупиняли реакцію 1,4 мл 5% розчину фосфорновольфрамової кислоти. Проводили контрольні проби так само, як і дослідні, тільки БАПНА додавали після фосфорновольфрамової кислоти. Разом з тим, паралельно ставили реакцію з трипсином без додавання гомогенату тканини. Відділяли осад шляхом центрифугування проб при 3000 об/хв та у прозорому супернатанті. Визначали оптичну густину на спектрофотометрі при довжині хвилі 383 нм в кюветі з товщиною 10 мм, порівнюючи пробу з контролем.

Визначення кількості $\alpha 1$ - ІІ проводили за калібрувальним графіком, в якому по осі абсцис відкладали кількість трипсину (1 - 10 мкг), а по осі ординат - оптичну густину проб, в яких відбувся гідроліз БАПНА відповідною концентрацією трипсину. Виражали кількість $\alpha 1$ - ІІ в мкмоль/ л/мг.

2.6.10 Визначення вмісту $\alpha 2$ – макроглобуліну ($\alpha 2$ – М) здійснювали за методом Веремеєнко К.Н. [9]

Цей метод полягав в тому, що $\alpha 2$ - М утворює з трипсином активний комплекс, який є нечутливим до дії інгібітору з бобів сої. Додавали до гомогенату тканини надлишкові по відношенню до усіх трипсинзв'язуючих білків кількості трипсину, і тим забезпечується повне насичення $\alpha 2$ - М ферментом. Надлишок трипсину інактивують соєвим інгібітором, який повністю нейтралізує вільний трипсин та не діє на комплекс трипсину з $\alpha 2$ - М, який має здатність розщеплювати хромогенні субстрати, зокрема N-бензоїл-DL-аргінін-пара-нітроанілід (БАПНА).

Застосовували для визначення $\alpha 2$ - М трипсин („Spofa”, Чехія), який розчиняли з розрахунку 5,5 мг на 5 мг 0,0025 N HCl, ex tempore розбавляли 0,05 моль/л фосфатним буфером в 4 рази. Готували хромогенний субстрат БАПНА перед використанням наступним чином: 43,5 мг субстрату (0,001 моль/л розчин) суспендували в 1 мл ацетону, додавали 70 мл 0,05 моль/л фосфатного буферу (pH 7,6) та ставили в водяний термостат при температурі 80 °C на 30 хв. Об'єм розчину після цього доводили до 100 мл названим буфером.

Додавали до 0,4 мл гомогенату тканини розбавленої в 20 разів, 0,3 мл розчину трипсину (250 мкг на 1 мл). З метою утворення комплексу $\alpha 2$ - М - трипсин витримували суміш 15 хв., загальний об'єм проби доводили до 1 мл 0,05 моль/л фосфатним буфером (pH 7,6) та додавали 3,2 мл 0,001 М розчину БАПНА. В термостаті експонували проби при температурі 30 °C 30 хв. Комплекс $\alpha 2$ - М-трипсин розщеплює БАПНА. Це призводить до утворення пара-нітроаніліну, кількість якого є мірою активності трипсину в комплексі з $\alpha 2$ - М. Зупиняли

реакцію шляхом додавання 1,4 мл 5% розчину фосфорновольфрамової кислоти в 1 моль/л ацетатному буфері (рН 4,5).

Контрольні проби проводили так само, як дослідні, тільки БАПНА додавали після фосфорновольфрамової кислоти. Відділяли осад шляхом центрифугування проб при 3000 об/хв протягом 30 хв. та у прозорому супернатанті визначали оптичну густину на спектрофотометрі при довжині хвилі 383 нм в кюветі з товщиною 10 мм, порівнюючи пробу з контролем.

Проводили визначення кількості $\alpha 2$ - М за калібрувальним графіком, в якому по осі абсцис відкладали кількість трипсину, а по осі ординат – оптичну щільність проб, в яких відбувся гідроліз БАПНА відповідною концентрацією трипсину.

Виражали кількість $\alpha 2$ - М г/л.

2.7. Статистичне опрацювання отриманих результатів. Усі числові результати піддавали статистичному опрацюванню з використанням середньої арифметичної (M), похибки середньої арифметичної (m), критерію Стюдента “ t ”. Розрахунки були здійснені з використанням засобів статистичного та графічного аналізу електронних таблиць Microsoft Excel пакету програм Microsoft Office.

РОЗДІЛ 3
ПАТОФІЗІОЛОГІЧНІ ЗМІНИ МАРКЕРІВ
ІМУННОЇ СИСТЕМИ В КРОВІ У МОРСЬКИХ СВИНОК
В РІЗНІ ПЕРІОДИ ФОРМУВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ
ПНЕВМОНІЇ АСОЦІЙОВАНОЇ З АДРЕНАЛІНОВИМ
ПОШКОДЖЕННЯМ МІОКАРДА ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ КОРВІТИНОМ

Відомо з літературних джерел, що імунна система, яка представлена головним чином гуморальною та клітинною ланками виконує цілий ряд захисних функцій в організмі. Зокрема, основною функцією гуморальної ланки імунітету є захист від позаклітинних збудників (бактерій), до яких може бути забезпечений вільний доступ антитіл [2, 11, 26, 29, 50, 54, 74, 113].

Головними функціями клітинних імунних реакцій є: протипухлинний захист від внутрішньоклітинних паразитів (вірусів, грибкових агентів, бактерій, протозойних мікроорганізмів); реалізація трансплантаційних реакцій (відторгнення пересаджених органів і тканин) [2, 11, 26, 29, 50, 94].

Істотну роль для розвитку запальних процесів в організмі відіграють циркулюючі імунні комплекси (ЦІК), які постійно утворюються і є в здоровому організмі. Тому, утворення ІК є нормальним фізіологічним процесом, який спрямований на підтримку гомеостазу організму. В залежності від співвідношення у плазмі антиген (АГ) і антитіло (АТ), ЦІК преципітуються та елімінуються з кровоплину фагоцитами і пошкоджуючої дії не мають [2, 11, 74, 88]. В умовах, якщо, утворення ІК виходить з-під контролю і має наростаючий характер, може виникати та чи інша імунокомплексна патологія. Вона здебільшого викликає патологічний процес у нирках, судинах, легенях або в суглобах [2, 11, 26, 29, 50, 54, 76, 85, 86, 87, 111].

Виходячи з вищенаведеного можна стверджувати, що імунна система причетна до будь-якого запального процесу в організмі та ішемії і некрозу,

гіпоксії і одразу вона реагує змінами на екзогенні чи ендогенні антигени, що потрапляють в організм або в ньому утворюються.

З метою виявлення особливостей порушень імунної системи при ЕП та АПМ окремо, а також при їх поєднанні були проведені імунологічні дослідження стосовно визначення вмісту Т і В-лімфоцитів і ЦІК в крові у динаміці (1-а, 3-я, 6-а, 14-і доби) розвитку даних коморбідних патологічних процесів до та після корекції корвітином.

Результати досліджень даного розділу дисертації ілюстровані та подані в 4 рисунках і 12 таблицях.

3.1 Патолофізіологічні зміни показників клітинного та гуморального імунітету в крові у тварин на 1-у, 3-ю, 6-у і 14-у доби експериментальної пневмонії

Основним завданням цього підрозділу є з'ясування особливостей змін маркерів імунної системи, а саме вмісту Т і В-лімфоцитів та ЦІК в крові в динаміці формування ЕП.

Результати імунологічних досліджень показують на те, що на ранніх етапах розвитку експериментальної пневмонії зокрема 1-а і 3-я доби не спостерігалось достовірних змін щодо вмісту Т-лімфоцитів у крові. Цей показник знаходився на рівні контрольної групи тварин (рис. 3.1, табл. 3.1).

Пізніше на 6-у і 14-у доби розвитку ЕП відбувалося незначне зниження рівня Т-лімфоцитів у крові відповідно на 13,3% ($p < 0,05$) і 17,0% ($p < 0,05$) проти інтактної групи тварин (контроль) (рис. 3.1, табл. 3.1).

Одержані нами результати досліджень дозволяють стверджувати про пригнічення клітинного імунітету на 6-у і 14-у доби формування ЕП. Дослідження іншого маркера імунної системи, який дає можливість виявити зміни її гуморальної ланки було визначення вмісту В-лімфоцитів в крові при ЕП. Встановлено, що, як на 1-у так і на 3-ю доби розвитку запального процесу в

легенях рівень цього показника не зазнавав порушень. Він знаходився на рівні констант першої групи тварин (рис. 3.1; табл. 3.2;).

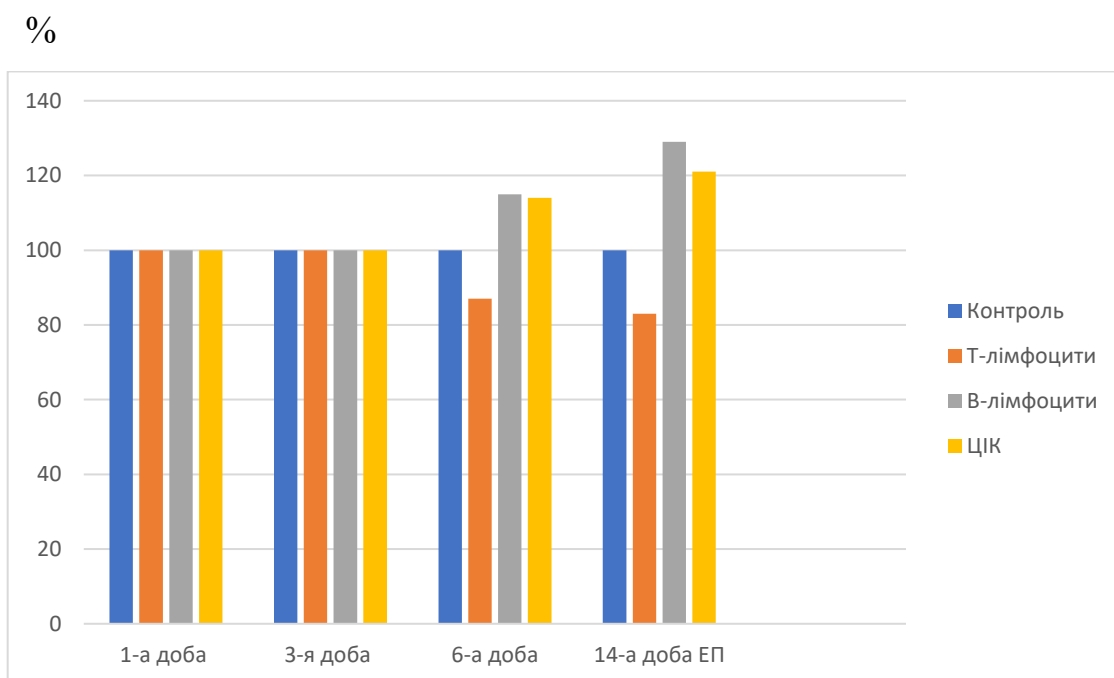


Рисунок 3.1 – Зміни показників імунної системи в крові морських свинок в динаміці формування ЕП (у % від контролю).

Таблиця 3.1 – Рівень Т-лімфоцитів у крові морських свинок в динаміці розвитку експериментальної пневмонії ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	Т-лімфоцити в %
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$46,3 \pm 3,0$
Тварини з ЕП	1-а доба	9	$46,1 \pm 3,0$ $p > 0,05$
	3-я доба	9	$46,2 \pm 3,0$ $p > 0,05$
	6-а доба	9	$40,1 \pm 2,8$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$38,4 \pm 2,3$ $p < 0,05$
Примітка: p – достовірність різниці показників при порівнянні ЕП з результатами у контрольній групі.			

Далі на 6-у і 14-у доби ЕП відбувалося зростання вмісту В-лімфоцитів у крові відповідно на 15,6% ($p<0,05$) і 29,0% ($p<0,05$) проти контролю, що свідчило про стимуляцію гуморальної ланки імунітету (рис. 3.1; табл. 3.2).

Таблиця 3.2 – Рівень В-лімфоцитів у крові морських свинок в динаміці розвитку експериментальної пневмонії ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	В-лімфоцити в %
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$14,1 \pm 1,1$
Тварини з ЕП	1-а доба	9	$14,4 \pm 1,1$ $p>0,05$
	3-я доба	9	$14,3 \pm 1,1$ $p>0,05$
	6-а доба	9	$16,3 \pm 1,1$ $p<0,05$
	14-а доба	9	$18,2 \pm 1,4$ $p<0,05$
Примітка: p – достовірність різниці показників при порівнянні ЕП з результатами у контрольній групі.			

Визначення ЦК у крові в динаміці розвитку ЕП показало, що в ранні періоди (1-а, 3-я доби) експерименту не було виявлено достовірних змін щодо зазначеного вище показника, а саме він знаходився на рівні контрольної групи тварин (рис. 3.1; табл. 3.3).

Водночас надалі, зокрема на 6у і 14-у доби ЕП відбувалося помітне зростання рівня ЦК в крові відповідно на 14,6% ($p<0,05$) і 21,7% ($p<0,05$) відносно контролю, що може вказувати на участь в патогенезі його імуннокомплексного механізму пошкодження клітин (рис. 3.1; табл. 3.3).

Таблиця 3.3 – Вміст ЦІК у крові морських свинок в динаміці розвитку експериментальної пневмонії ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	ЦІК в од. опт. щ.
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$36,8 \pm 1,3$
Тварини з ЕП	1-а доба	9	$37,0 \pm 1,3$ $p > 0,05$
	3-я доба	9	$37,1 \pm 1,4$ $p > 0,05$
	6-а доба	9	$42,2 \pm 1,5$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$44,8 \pm 1,6$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ЕП з результатами у контрольній групі.			

Таким чином, проведені нами імунологічні дослідження дають змогу робити висновок про те, що ЕП викликає порушення імунного гомеостазу, які проявлялися зниженням рівня Т-лімфоцитів та підвищенням вмісту В-лімфоцитів і ЦІК в крові в пізні періоди (6-а і 14-а доби) нашого спостереження. Ці результати свідчать про пригнічення клітинної ланки на тлі стимуляції гуморальної ланок імунітету.

3.2 Особливості порушень змін показників клітинної та гуморальної ланок імунітету в сироватці крові морських свинок в динаміці розвитку АПМ

Результати досліджень показали, що на усіх етапах формування (1-а, 3-я, 6-а, 14-а доби) АПМ спостерігалось стабільне зниження вмісту Т-лімфоцитів у крові відповідно на 20,5% ($p < 0,05$), 21,8% ($p < 0,05$), 20,0% ($p < 0,05$) і 19,8 ($p < 0,05$)

в порівнянні з контролем, що свідчило про пригнічення клітинного імунітету та зниження його здатності захищати організм від внутрішньоклітинних мікроорганізмів (рис. 3.2; табл. 3.4).

Таблиця 3.4 – Вміст Т-лімфоцитів у крові морських свинок в динаміці формування АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	Т-лімфоцити в %
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$46,3 \pm 3,0$
Тварини з АПМ	1-а доба	9	$36,8 \pm 2,3$ $p < 0,05$
	3-я доба	9	$36,2 \pm 2,2$ $p < 0,05$
	6-а доба	9	$37,0 \pm 2,4$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$37,1 \pm 2,4$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні АПМ з результатами у контрольній групі.			

Докорінно інших напрямів змін зазнав рівень В-лімфоцитів, як у ранній (1-а, 3-я доби) так і в пізній періоди (6-а, 14-а доби) розвитку АПМ, а саме вміст цього показника суттєво зростав в крові відповідно на 35,4% ($p < 0,05$), 43,9% ($p < 0,05$), 36,1% ($p < 0,05$) і 34,7% ($p < 0,05$) проти першої групи тварин (рис. 3.2; табл. 3.5).

Одержані нами результати досліджень вказують на активізацію гуморального імунітету при АПМ на усіх етапах його формування.

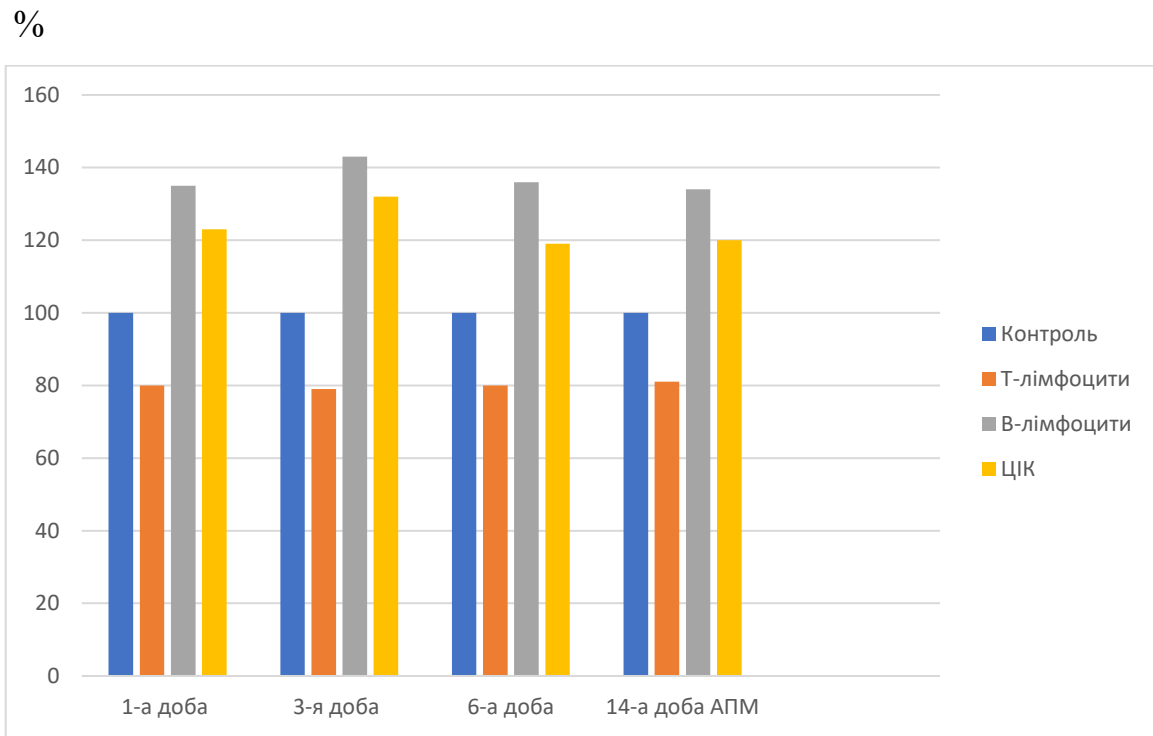


Рисунок 3.2 – Особливості змін показників імунної системи у сироватці крові морських свинок в динаміці формування АПМ (у % від контролю)

Таблиця 3.5 – Вміст В-лімфоцитів у крові морських свинок в динаміці формування АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	В-лімфоцити в %
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$14,1 \pm 1,1$
Тварини з АПМ	1-а доба	9	$19,1 \pm 1,5$ $p < 0,05$
	3-я доба	9	$20,3 \pm 1,6$ $p < 0,05$
	6-а доба	9	$19,2 \pm 1,5$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$19,0 \pm 1,4$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні АПМ з результатами у контрольній групі.			

Важливим показником для оцінки стану гуморального імунітету має визначення ЦІК у крові в динаміці формування АПМ. Виявлено, що на 1-у і 3-ю доби експерименту спостерігалось підвищення вмісту ЦІК в крові відповідно на 23,3% ($p<0,05$) і 32,0% ($p<0,05$), а далі на 6-у і 14-у доби АПМ продовжував зростати цей показник, але дещо в меншій мірі вираження, відповідно на 19,8% ($p<0,05$) і 20,3% ($p<0,05$) в порівнянні з контрольною групою тварин (рис. 3.2; табл. 3.6).

Таблиця 3.6 – Рівень ЦІК у крові морських свинок в різні періоди розвитку АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	ЦІК в од. опт. щ.
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$36,8 \pm 1,3$
Тварини з АПМ	1-а доба	9	$45,4 \pm 1,5$ $p<0,05$
	3-я доба	9	$48,6 \pm 1,8$ $p<0,05$
	6-а доба	9	$44,1 \pm 1,5$ $p<0,05$
	14-а доба	9	$44,3 \pm 1,5$ $p<0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні АПМ з результатами у контрольній групі.			

Одержані нами результати дослідження щодо маркерів імунної системи, а саме рівня Т і В-лімфоцитів та ЦІК показало, що на усіх етапах формування АПМ відбувалося перманентне підвищення вмісту В-лімфоцитів і ЦІК та зниження вмісту Т-лімфоцитів у крові, які були найбільше виражені на 3-ю добу експерименту проти групи тварин, що свідчило про помітні порушення імунітету

та їх активну участь в патогенезі розвитку цієї експериментальної моделі хвороби.

Отже, зазначені вищі зміни показників імунної системи при АПМ вказують на доцільністю їх визначення. На підставі цих порушень можна характеризувати стан, як гуморальної так і клітинної ланок імунітету та служити основою для призначення патогенетичної корекції.

3.3 Зміни імунної системи у крові тварин в динаміці формування поєднаної ЕП та АПМ

Цілий ряд науковців стверджують, що різні види мікроорганізмів, в тому числі стафілокок можуть служити алергенами інфекційного походження. Тому за умов повторного контакту організму з антигеном утворюються ЦІК. Розміри, концентрація і час присутності у кров'яному руслі ЦІК мають дуже велике значення. Найбільший патогенний вплив на структурні властивості ЦІК має концентрація взаємодіючих АГ і АТ [26, 29, 114]. Рівень ЦІК залежить від швидкості їх утворення, кількості АТ, інтенсивності синтезу АТ, хімічних і фізичних властивостей АГ і АТ, а також швидкості елімінації з організму. Якщо переважає концентрації АГ над концентрацією АТ, утворюються малі ЦІК, які повільно виводяться і тривало персистують у циркуляції. Такі ІК не здатні активувати систему комплементу та без перешкод елімінуються із організму через нирки [26, 29]. Якщо зростає надлишок АТ і наближення його до рівня рівноваги з концентрацією АГ продукує утворення ІК середніх розмірів, які мають високу комплементзв'язуючу здатність, вони погано фагоцитуються і незадовільно виводяться з організму. Власне це зумовлює їх патогенний вплив [26, 29]. Якщо оптимальне співвідношення концентрацій АГ і АТ тоді це ініціює утворення великих ЦІК. Вони упродовж години фагоцитуються і виявляють незначну патогенність [26, 29, 114].

Найбільш важливим є даний підрозділ третього розділу, оскільки метою його є з'ясувати патофізіологічні особливості змін показників імунної системи при коморбідній патології (ЕП і АПМ) на різних етапах її перебігу. Нами встановлено, послідовне зниження вмісту Т-лімфоцитів у крові на 32,3% ($p<0,05$), 33,4% ($p<0,05$), 38,4% ($p<0,05$) і 47,9% ($p<0,05$) відповідно на 1-у, 3-ю, 6-у і 14-у доби формування ЕП в поєднанні з АПМ проти контролю (рис. 3.3; табл. 3.7).

Таблиця 3.7 – Рівень Т-лімфоцитів у крові морських свинок в динаміці формування ЕП асоційованої з АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	Т-лімфоцити в %
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$46,3 \pm 3,0$
Тварини з ЕП та АПМ до лікування	1-а доба	9	$31,3 \pm 2,2$ $p<0,05$
	3-я доба	9	$30,8 \pm 2,3$ $p<0,05$
	6-а доба	9	$28,4 \pm 1,9$ $p<0,05$
	14-а доба	9	$24,1 \pm 1,8$ $p<0,05$
Примітки: р – достовірність різниці показників при порівнянні ЕП та АПМ з результатами контрольної групи.			

Отримані нами результати досліджень вказують на помітне зниження клітинного імунітету, яке спостерігалось впродовж усіх періодів розвитку даних коморбідних станів з особливою перевагою на 14-у добу експерименту.

Визначення вмісту В-лімфоцитів у крові тварин в процесі розвитку ЕП і АПМ (1-а, 3-я, 6-а, 14-а доби) показало поступове зростання його рівня

відповідно на 52,4% ($p<0,05$), 60,9% ($p<0,05$), 68,7% ($p<0,05$) і 73,7% ($p<0,05$) в порівнянні з інтактною групою тварин (рис. 3.3; табл. 3.8), що свідчило про активізацію гуморального імунітету з домінуванням у найпізніші терміни (6-а і 14-а доби) нашого спостереження.

Таблиця 3.8 – Рівень В-лімфоцитів у крові тварин в динаміці поєднаної ЕП з АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	В-лімфоцити в %
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$14,1 \pm 1,1$
Тварини з ЕП та АПМ	1-а доба	9	$21,5 \pm 1,7$ $p<0,05$
	3-я доба	9	$22,7 \pm 1,8$ $p<0,05$
	6-а доба	9	$23,8 \pm 1,8$ $p<0,05$
	14-а доба	9	$24,5 \pm 1,8$ $p<0,05$
Примітки: р – достовірність різниці показників при порівнянні ЕП та АПМ з результатами контрольної групи.			

Важливе значення для характеристики гуморального імунітету та визначення участі III типу алергічних реакцій при даних коморбідних патологіях має дослідження загальних ЦІК в крові.

Маніфестація ЕП і АПМ (1-а, 3-я, 6-а і 14-а доби) призводить до стабільного зростання рівня ЦІК у крові відповідно на 35,5% ($p<0,05$), 35,3% ($p<0,05$), 39,4% ($p<0,05$) і 51,6 % ($p<0,05$) проти першої груп тварин, що вказувало на патогенний вплив їх (рис. 3.3; табл. 3.9). Ці результати дають можливість висловити думку про те, що перманентне підвищення ЦІК з

особливим домінуванням на 6-у і 14-у доби експерименту, що відповідало стадіям розпалу і рековаленсценсії при ЕП та стадіям репаративного процесу і вогнищево-дифузної проліферації фібробластів. Тривала циркуляція збільшеної кількості ЦІК та потрапляння їх в нирки, викликає патогенний вплив на цей орган за умов розвитку ЕП і АПМ.

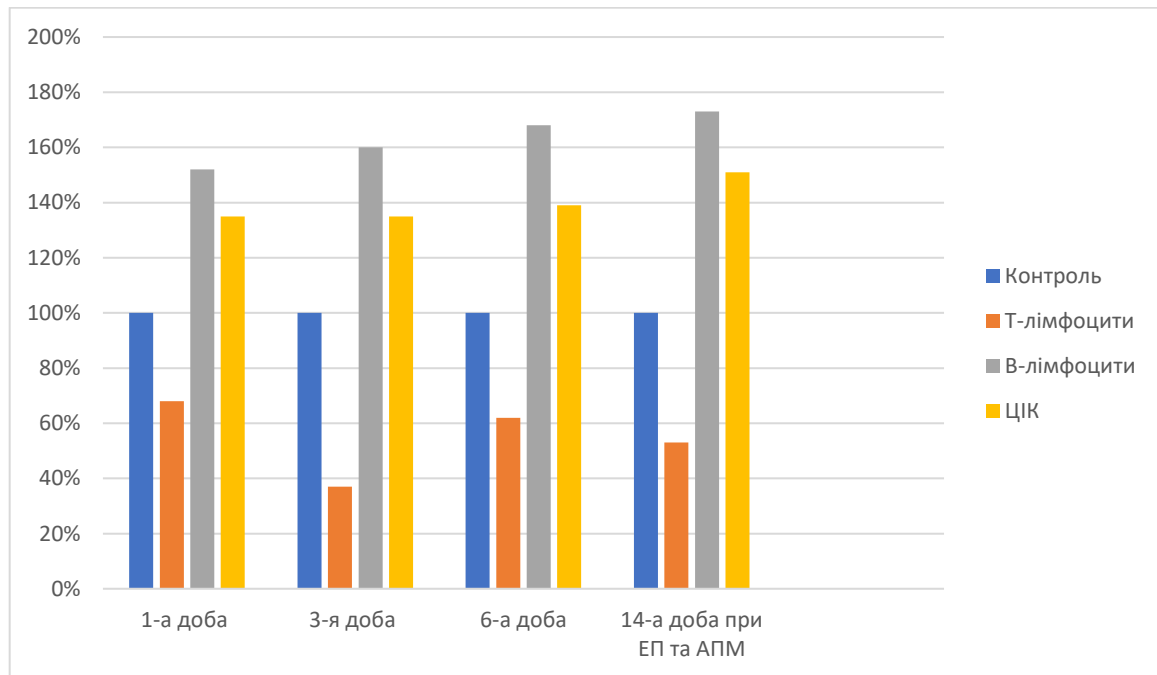


Рисунок 3.3 – Порухення змін показників імунної системи у сироватці крові морських свинок в динаміці формування ЕП та АПМ (у % від контролю)

Таким чином, проведені нами імунологічні дослідження щодо визначення Т, В-лімфоцитів, ЦІК показало послідовне підвищення показників гуморального зокрема В-лімфоцитів і ЦІК на усіх періодах експерименту в умовах помітного зниження клітинного імунітету, які були найбільше виражені на 14-у добу даних поєднаних ЕП і АПМ.

Одержані результати досліджень вказують на суттєві порушення функціонування імунного гомеостазу та дають підставу стверджувати про необхідність застосування імунокоригуючої терапії.

Таблиця 3.9 – Вміст ЦІК у крові тварин в динаміці поєднаної ЕП з АПМ
($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	ЦІК в од. опт. щ.
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$36,8 \pm 1,3$
Тварини з ЕП та АПМ	1-а доба	9	$49,9 \pm 1,8$ $p < 0,05$
	3-я доба	9	$49,8 \pm 1,8$ $p < 0,05$
	6-а доба	9	$51,3 \pm 1,9$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$55,8 \pm 2,2$ $p < 0,05$
Примітки: р – достовірність різниці показників при порівнянні ЕП та АПМ з результатами контрольної групи.			

3.4 Вплив корвітину на змінені маркери імунної системи у крові тварин при асоційованій - ЕП та АПМ

Результати досліджень показали, що в умовах коморбідності суттєво зазнають змін вміст Т, В-лімфоцитів і ЦІК в крові на усіх етапах нашого спостереження з перевагою на 6-у і 14-у доби експерименту. Це зумовлювало використання патогенетично обґрунтованого імунокоригуючого лікарського засобу, а саме корвітину. Застосування даного лікарського препарату призводило до підвищення вмісту Т-лімфоцитів у крові на 62,6% ($p < 0,05$) при ЕП і АПМ на 14-у добу експерименту в порівнянні з групою тварин з даною коморбідною патологією, які не піддавалися впливу корвітину (рис. 3.4; табл. 3.10).

Таблиця 3.10 – Вплив корвітину на рівень Т-лімфоцитів у крові тварин при ЕП та АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Кількість тварин	Т-лімфоцити в %
Інтактні морські свинки. Контроль	10	$46,3 \pm 3,0$
ЕП та АПМ на 14-у добу експерименту (до лікування)	9	$24,1 \pm 1,8$ $p < 0,05$
ЕП та АПМ на 14-у добу експерименту (після лікування корвітином)	10	$39,2 \pm 2,4$ $p < 0,05$; $p_1 < 0,05$

Примітка 1. p – достовірність різниці при порівнянні ЕП та АПМ з результатами у контрольній групі;

Примітка 2. p_1 – достовірність різниці при порівнянні показників до та після лікування корвітином (на 14-у добу ЕП та АПМ).

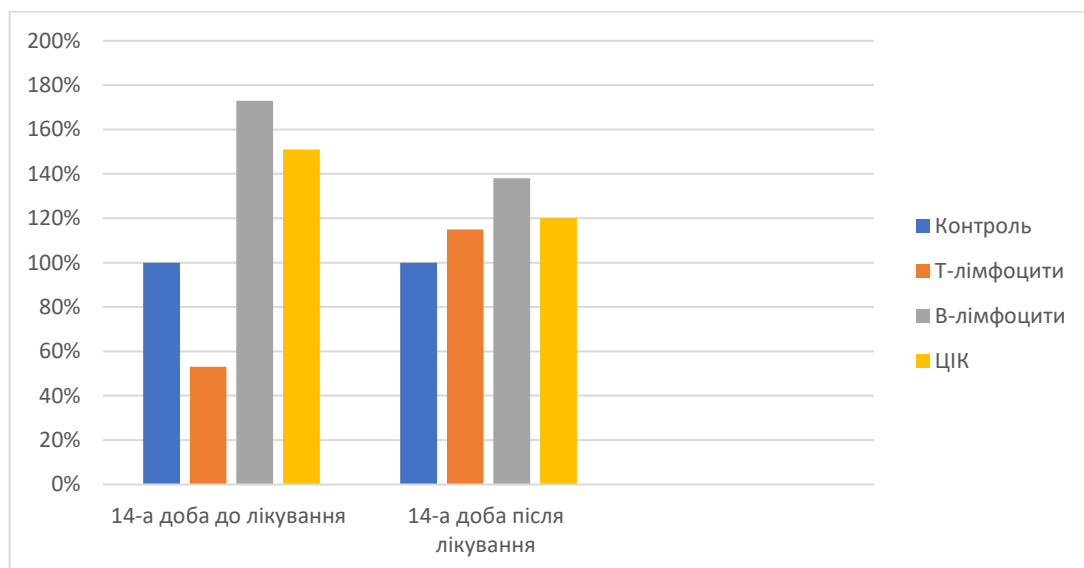


Рисунок 3.4 Вплив корвітину на порушені показники імунної системи в крові тварин при ЕП та АПМ (в % на 14-ту добу до та після лікування)

Також нами вивчався вплив препарату корвітину на рівень В-лімфоцитів у крові при ЕП і АПМ.

Встановлено, що застосування корвітину впродовж 9 діб з 6-ої по 14-у доби спричиняло імунокоригуючу його дію на вміст В-лімфоцитів у крові, який

знижувався на 35,5% ($p<0,05$) відносно цих коморбідних хвороб до лікування (рис. 3.4; табл. 3.11).

Нами доведено, що використання корвітину викликало помітні зміни щодо рівня ЦІК.

Таблиця 3.11 - Вплив корвітину на рівень В-лімфоцитів у крові тварин при ЕП та АПМ ($M\pm m$)

Форма досліджу	Кількість тварин	В-лімфоцити в %
Інтактні морські свинки. Контроль	10	$14,1 \pm 1,1$
ЕП та АПМ на 14-у добу експерименту (до лікування)	9	$24,5 \pm 1,8$ $p<0,05$
ЕП та АПМ на 14-у добу експерименту (після лікування корвітином)	10	$15,8 \pm 1,4$ $p<0,05$; $p_1<0,05$
Примітка 1. p – достовірність різниці при порівнянні ЕП та АПМ з результатами у контрольній групі;		
Примітка 2. p_1 – достовірність різниці при порівнянні показників до та після лікування корвітином (на 14-у добу ЕП та АПМ).		

Цей показник знижувався на 31,5% ($p<0,05$) на 14-у добу ЕП і АПМ в порівнянні з групою морських свинок при цих експериментальних моделях хвороби до корекції (рис. 3.4; табл. 3.12).

Таким чином, проведений нами аналіз порушень імунних показників свідчив про необхідність і важливість їх досліджень та служив одним з суттєвих критеріїв для характеристики стану імунологічної реактивності організму а також вказував про можливий вплив на механізми пошкодження нирок за наявності ЕП і АПМ на доцільність призначення імунокоригуючої патогенетичної терапії.

Властиво застосування корвітину спричиняло імунокоригуючу дію на порушені маркери імунної системи при ЕП і АПМ.

Таблиця 3.12 – Вплив корвітину на вміст ЦІК у крові тварин при ЕП та АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Кількість тварин	ЦІК в од. опт.щ.
Інтактні морські свинки. Контроль	10	$36,8 \pm 1,3$
ЕП та АПМ на 14-у добу експерименту (до лікування)	9	$55,8 \pm 2,2$ $p < 0,05$
ЕП та АПМ на 14-у добу експерименту (після лікування корвітином)	10	$38,2 \pm 1,3$ $p > 0,05$; $p_1 < 0,05$
Примітка 1. p – достовірність різниці при порівнянні ЕП та АПМ з результатами у контрольній групі;		
Примітка 2. p_1 – достовірність різниці при порівнянні показників до та після лікування корвітином (на 14-у добу ЕП та АПМ).		

На основі одержаних результатів дослідження, які описані у третьому розділі дисертації були зроблені наступні проміжні висновки:

1. Експериментальна пневмонія (на 6-у і 14-у доби) супроводжується суттєвими порушеннями імунної системи, яка проявлялася стимуляцією гуморальної на тлі пригнічення клітинної ланок імунітету проти контролю. Виняток становили групи тварин з ЕП на 1-у і 3-ю доби, що вказували на незмінність даних показників, вони були на рівні контролю.

2. Адреналінове пошкодження міокарда на усіх етапах спостереження викликає стабільне зростання вмісту ЦІК і В-лімфоцитів в умовах помітного зниження рівня Т-лімфоцитів у крові проти контрольної групи тварин.

3. Коморбідна патологія (ЕП і АПМ) спричиняє перманентні зміни показників імунної системи, а саме зростання рівня В-лімфоцитів і ЦІК на тлі помітного зниження Т-лімфоцитів у крові на усіх стадіях (1-а, 3-я, 6-а і 14-а доби) їх розвитку з домінуванням на 6-у і 14-у доби експерименту проти контролю. Цей

дисбаланс – стимуляція гуморального на тлі пригнічення клітинного імунітету суттєво може впливати на механізми пошкодження нирок.

4. Застосування корвітину призводило до імунокоригуючої дії його на порушенні показники імунної системи, а саме спостерігалось зростання вмісту Т-лімфоцитів та зниження рівнів В-лімфоцитів і ЦІК в крові на 14-у добу ЕП і АПМ проти тварин з цими експериментальними моделями хвороб до лікування.

Результати досліджень цього розділу дисертації відображено в двох наукових працях [81, 115].

РОЗДІЛ 4

РОЛЬ ЦИТОКІНІВ У МЕХАНІЗМАХ ПОШКОДЖЕННЯ НИРОК ЗА УМОВ РОЗВИТКУ АДРЕНАЛІНОВОГО ПОШКОДЖЕННЯ МІОКАРДА І ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПНЕВМОНІЇ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ КОРВІТИНОМ

Численні дослідження доводять, що цитокіни відіграють важливе значення у підтримці гомеостазу та в ініціюванні, регулюванні та завершенні відповіді на пошкодження [21, 29, 100]. Цитокіни продукуються клітинами у відповідь на молекулярні стимули.

У даний час активно обговорюється питання про роль порушення цитокінового статусу в ініціації та прогресуванні запального процесу в різних тканинах організму у тому числі в нирках [21, 26, 29, 72, 100].

Відомо що різні фагоцитарні рецептори зумовлюють різні паттерни секреції 34 цитокінів, а саме, у той час як фагоцитоз патогенів часто викликає запальну реакцію, фагоцитоз апоптотичних тіл ініціює протизапальні сигнали. На сьогодні існують окремі набори цитокінів, які синтезуються найчастіше у відповідь на усі патогенні мікроорганізми, але також відомі деякі патогенспецифічні паттерни секреції цитокінів [21, 26, 72, 93, 100].

Доведено, що цитокінам, як універсальним біорегуляторам міжклітинних взаємодій при імунній відповіді, належить основна функція у реалізації імунозапальної реакції в організмі. У цьому контексті посилений синтез прозапальних чи дисбаланс опозиційних пулів цитокінів відіграє помітну роль у механізмах різних захворювань у зв'язку із надмірною міграцією до осередку запалення ефektorних клітин. Це посилює патоімунний процес і спричиняє до цитокінопосередкованого ураження тканинних структур органів. А саме тому цитокіновий профіль сироватки крові має важливе значення для оцінки ступеня активності запального процесу [21, 29, 72, 95, 100].

Виходячи з вищевикладеного, дослідження особливостей змін цитокінового профілю в крові при експериментальній пневмонії та АПМ відіграє

помітну роль не лише для патогенезу, але й для діагностики і обґрунтування методів їх патогенетичної терапії.

З метою виконання даного завдання було проведено дослідження крові морських свинок та проаналізовано особливості змін деяких маркерів класу цитокінів, як прозапальної групи – ФНП- α , ІЛ-6, так і протизапальної – ІЛ-10, в різні періоди формування ЕП та АПМ (1-а, 3-я, 6-а і 14-а доби) ізольовано так і в їх асоціації до та після застосування препарату корвітину.

Результати досліджень, що містяться у четвертому розділі дисертації ілюстровані 12 таблицями та 4 рисунками.

4.1. Особливості змін цитокінового статусу в крові в динаміці формування експериментальної пневмонії

Основною метою даного підрозділу було з'ясувати особливості порушень рівня цитокінів у крові на 1-у, 3-, 6-у і 14-у доби розвитку експериментальної пневмонії. А саме досліджували цитокіни протизапальні (ФНП- α і ІЛ-6) та протизапальні (ІЛ-10) в крові при ЕП. Результати досліджень представлені в 1 рисунку і трьох таблицях (4.1; 4.2; 4.3).

Маніфестація ЕП (1-а, 3-я, 6-а і 14-а доби) зумовлює послідовне однонаправлене підвищення вмісту ФНП- α в крові відповідно на 43,4% ($p < 0,05$), 47,8% ($p < 0,05$), 56,5% ($p < 0,05$) і 58,6% ($p < 0,05$) проти контрольної групи тварин (рис. 4.1; табл. 4.1), що свідчило про стимуляцію запального процесу в легенях. Визначення ще одного представника з групи прозапальних цитокінів зокрема ІЛ-6 в крові показало, що на ранніх етапах (1-а, 3-я доби) розвитку ЕП відбувалося зростання вмісту ІЛ-6 у крові відповідно на 48,4% ($p < 0,05$) і 66,6% ($p < 0,05$) відносно інтактної групи тварин (рис. 4.1; табл. 4.2).

На більш пізніх періодах формування ЕП (6-а, 14-а доби) було виявлено подальше підвищення зазначеного цитокіну в крові, зокрема рівень його зростав

відповідно на 69,6% ($p<0,05$) і 68,1% ($p<0,05$) в порівнянні з першою групою тварин (рис. 4.1; табл. 4.2).

Таблиця 4.1 – Вміст ФНП-а у крові морських свинок в динаміці розвитку експериментальної пневмонії ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	ФНП-а в пг-мл
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$0,46 \pm 0,02$
Тварини з ЕП	1-а доба	9	$0,66 \pm 0,03$ $p<0,05$
	3-я доба	9	$0,68 \pm 0,03$ $p<0,05$
	6-а доба	9	$0,72 \pm 0,04$ $p<0,05$
	14-а доба	9	$0,73 \pm 0,04$ $p<0,05$
Примітка: р – достовірність різниці показників при порівнянні ЕП з результатами у контрольній групі.			

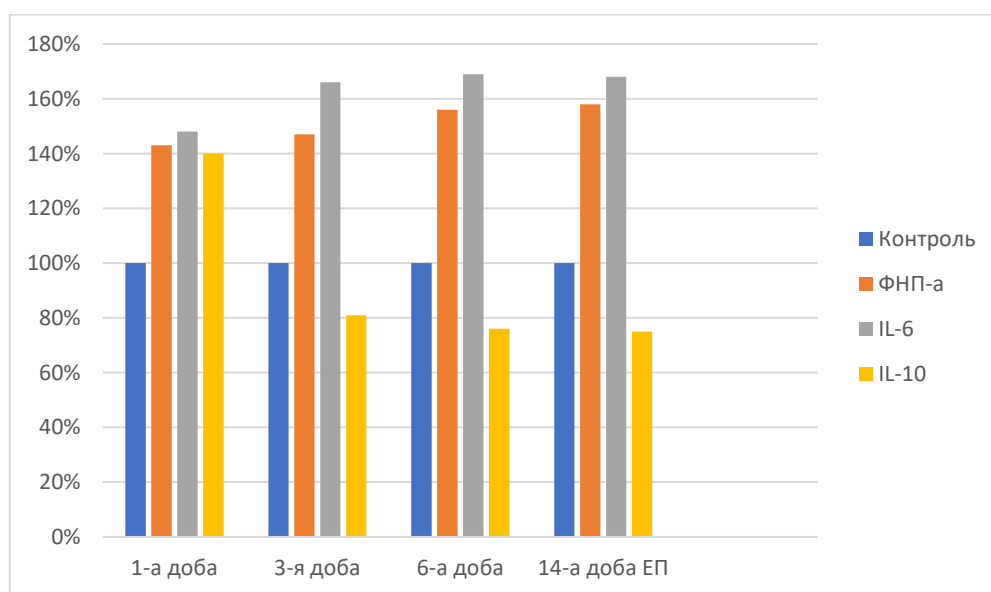


Рисунок 4.1 – Вміст цитокінів в сироватці крові морських свинок в динаміці формування ЕП (у % від контролю)

Таблиця 4.2 – Вміст IL-6 у крові морських свинок в динаміці розвитку експериментальної пневмонії ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	IL-6 в пг-мл
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$0,66 \pm 0,04$
Тварини з ЕП	1-а доба	9	$0,98 \pm 0,05$ $p < 0,05$
	3-я доба	9	$1,1 \pm 0,06$ $p < 0,05$
	6-а доба	9	$1,12 \pm 0,06$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$1,11 \pm 0,06$ $p < 0,05$
Примітка: p – достовірність різниці показників при порівнянні ЕП з результатами у контрольній групі.			

Отже, як видно з одержаних наших результатів дослідження, що ЕП супроводжується стабільним підвищенням прозапальних цитокінів, а саме вмісту ФНП- α і IL-6 на усіх етапах їх визначення з особливою перевагою на 6-у і 14-у доби цієї експериментальної моделі хвороби, що вказувало на розгортання запального процесу в легенях. Високий рівень прозапальних цитокінів суттєво вплинув на вміст протизапального інтерлейкіну. А саме рівень IL-10 в крові на 1-у добу ЕП зростав на 40,8% ($p < 0,05$) проти контролю (рис. 4.1; табл. 4.3). А згодом починаючи з 3-ої доби ЕП і далі (6-а, 14-а доби) спостерігалися протилежні зміни даного цитокіну, який зазнавав помітного зниження в крові відповідно на 19,3% ($p < 0,05$), 24,7% ($p < 0,05$) і 25,8% ($p < 0,05$) в порівнянні з першою групою тварин (рис. 4.1; табл. 4.3).

Таким чином, проводячи аналіз окремих показників імуноферментного дослідження можна дійти до такого висновку, що експериментальна пневмонія спричиняє розвиток дисбалансу між про- і протизапальними цитокінами.

Зокрема вміст ФНП-α і ІЛ-6 поступово зростали і досягнули найвищих величин на 6-у і 14-у доби експерименту.

Таблиця 4.3 – Вміст ІЛ-10 у крові морських свинок в динаміці розвитку експериментальної пневмонії ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	ІЛ-10 в пг-мл
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$9,3 \pm 0,4$
Тварини з ЕП	1-а доба	9	$13,1 \pm 0,5$ $p < 0,05$
	3-я доба	9	$7,5 \pm 0,3$ $p < 0,05$
	6-а доба	9	$7,0 \pm 0,3$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$6,9 \pm 0,2$ $p < 0,05$
Примітка: p – достовірність різниці показників при порівнянні ЕП з результатами у контрольній групі.			

Водночас рівень ІЛ-10 зазнавав двофазних змін. А саме на 1-у добу ЕП відбувалося компенсаторне його зростання, а пізніше на 3-ю, 6-у і 14-у доби ЕП спостерігалось його помітне зниження, яке домінувало також в найпізніший термін нашого спостереження відносно контрольної групи тварин.

Отже, виявлений дисбаланс цитокінового статусу дозволяє зробити висновок про те, що ЕП зумовлює зрив адаптаційних механізмів і може призводити до прогресування запального процесу в легенях за рахунок цитокіно-опосередкованого впливу їх та посилення дії на інші механізми, зокрема імунні, оксидантного стресу, протеолізу і порушень системи оксиду азоту.

4.2. Порушення цитокіногенезу за умов розвитку адреналінового пошкодження міокарда

Основним завданням другого підрозділу четвертого розділу було вивчити особливості змін цитокінів у крові в динаміці розвитку адреналінового пошкодження міокарда. Було проведено імуноферментне дослідження показників цитокінового статусу (ФНП- α , IL-6 і IL-10) в крові в динаміці (1-а, 3-я, 6-а і 14-а доби) формування АПМ.

Результати досліджень представлені в 1 рисунку (4.2) її трьох таблицях (4.4; 4.5; 4.6).

Таблиця 4.4 – Вміст ФНП- α у крові морських свинок в динаміці розвитку АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	ФНП- α в пг-мл
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$0,46 \pm 0,02$
Тварини з АПМ	1-а доба	9	$0,70 \pm 0,04$ $p < 0,05$
	3-я доба	9	$0,71 \pm 0,04$ $p < 0,05$
	6-а доба	9	$0,69 \pm 0,03$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$0,68 \pm 0,03$ $p < 0,05$
Примітка: p – достовірність різниці показників при порівнянні АПМ з результатами у контрольній групі.			

Результати досліджень показали, що у перші доби, зокрема на 1-у і 3-ю доби АПМ спостерігалось найбільше підвищення вмісту ФНП- α в крові відповідно на 1-у і 3-ю доби на 52,1% ($p < 0,05$) і 54,3% ($p < 0,05$) проти контролю

(рис. 4.2; табл. 4.4). Пізніше на 6-у і 14-у доби АПМ було встановлено зростання цього цитокіну, проте, дещо в меншій мірі, а саме вміст ФНП- α підвищувався відповідно на 50,0% ($p<0,05$) і 47,8% ($p<0,05$) відносно інтактної групи тварин (рис. 4.2; табл. 4.4).

Таблиця 4.5 – Вміст IL-6 у крові морських свинок в динаміці розвитку АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	IL-6 в пг-мл
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$0,66 \pm 0,04$
Тварини з АПМ	1-а доба	9	$0,91 \pm 0,05$ $p<0,05$
	3-я доба	9	$1,1 \pm 0,06$ $p<0,05$
	6-а доба	9	$0,94 \pm 0,05$ $p<0,05$
	14-а доба	9	$0,96 \pm 0,05$ $p<0,05$
Примітка: р – достовірність різниці показників при порівнянні АПМ з результатами у контрольній групі.			

Важливе значення для патогенезу розвитку АПМ має визначення іншого прозапального цитокіну (IL-6).

Нами встановлено, що в динаміці формування АПМ (1-а, 3-я, 6-а, 14-а доби) відбувається перманентне підвищення вмісту IL-6 в крові відповідно на 37,8% ($p<0,05$), 66,8% ($p<0,05$), 42,4% ($p<0,05$) і 45,4% ($p<0,05$) в порівнянні з першою групою тварин (рис.4.2; табл. 4.5).

Таким чином, визначення рівня ФНП- α і IL-6 в крові, які відносяться до групи прозапальних цитокінів показало їх однонаправлені зміни, а саме їх зростання на усіх етапах розвитку АПМ з домінуванням на 3-ю добу

експерименту, що свідчило, очевидно не лише про формування некрозу міокарда, але її розвитку перифокального запалення.

Одержані результати досліджень протизапального цитокіну, зокрема IL-10 в крові на всіх періодах (1-а, 3-я, 6-а і 14-а доби) розвитку АПМ відбувалися протилежні зміни. А саме вміст IL-10 крові був стабільно зниженим відповідно на 23,6% ($p<0,05$), 24,7% ($p<0,05$), 22,5% ($p<0,05$), 21,5% ($p<0,05$) відносно групи інтактних тварин (рис. 4.2; табл. 4.6).

Таблиця 4.6 – Вміст IL-10 у крові морських свинок в динаміці розвитку АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	IL-10 в пг-мл
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$9,3 \pm 0,4$
Тварини з АПМ	1-а доба	9	$7,1 \pm 0,3$ $p<0,05$
	3-я доба	9	$7,0 \pm 0,3$ $p<0,05$
	6-а доба	9	$7,2 \pm 0,3$ $p<0,05$
	14-а доба	9	$7,3 \pm 0,3$ $p<0,05$
Примітка: p – достовірність різниці показників при порівнянні АПМ з результатами у контрольній групі.			

Отже, підсумовуючи отримані нами результати імуноферментного дослідження дають можливість стверджувати, що АПМ супроводжується дисбалансом цитокіногенезу, яке було виражене на усіх періодах його дослідження з перевагою на 3-ю добу експерименту.

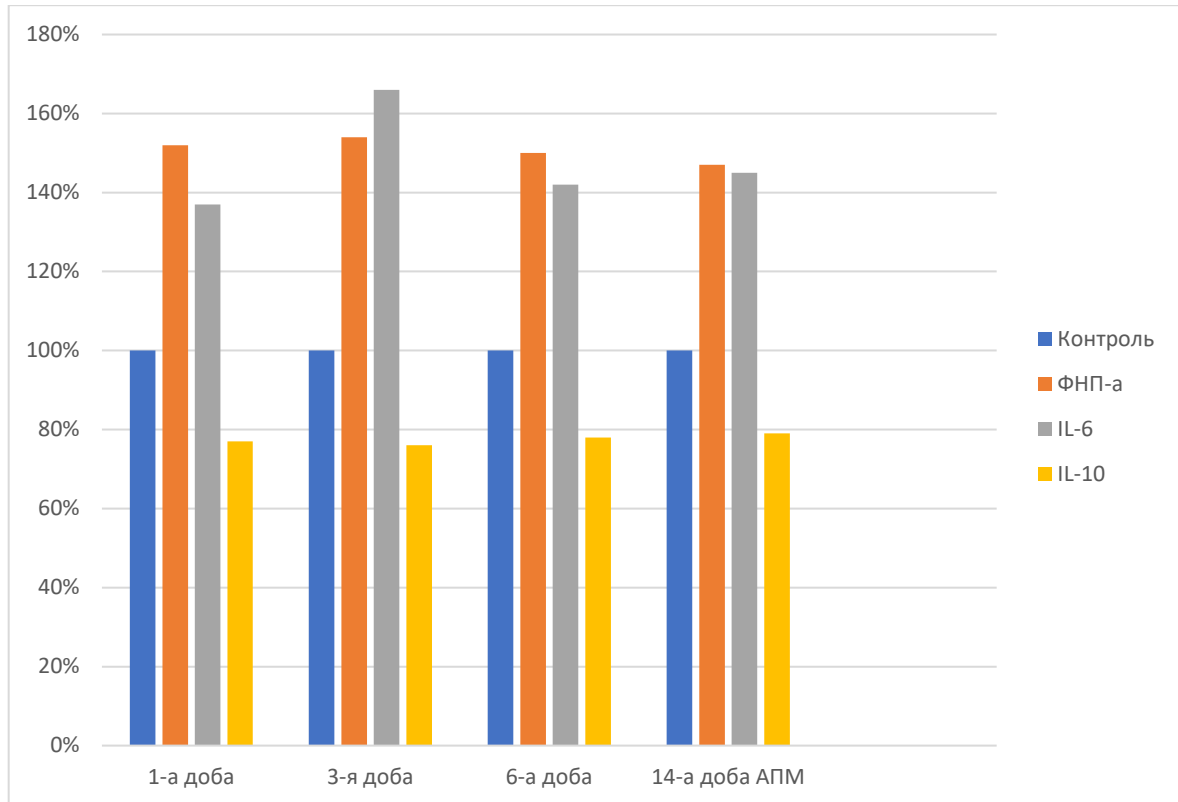


Рисунок 4.2 – Вміст цитокінів у крові тварин в динаміці розвитку АПМ (у % від контролю).

4.3. Вміст про і протизапальних цитокінів у крові і їх роль у механізмах пошкодження нирок при поєднанні експериментальної пневмонії і адреналінового пошкодження міокарда

Основним заданням третього підрозділу було дослідити зміну маркерів про і протизапальних цитокінів у крові на 1-у, 3-ю, 6-у і 14-у доби розвитку коморбідної патології (ЕП і АПМ) та з'ясувати роль їх порушень в механізмах пошкодження нирок. Було проведено нами імуноферментне дослідження щодо визначення рівня ФНП-α, IL-6, IL-10 в крові в динаміці формування ЕП разом з АПМ.

Коморбідна патологія (ЕП і АПМ) зумовлювала поетапне зростання вмісту ФНП-α в крові на 50,0% ($p < 0,05$), 56,5% ($p < 0,05$), 60,8% ($p < 0,05$) і 63,0% ($p < 0,05$) відповідно на 1-у, 3-ю, 6-у і 14-у доби даних експериментальних моделей хвороб

проти контролю, що вказувало на активізацію запального процесу в легенях і прогресування АПМ, яке було найбільше виражене на 6-у і 14-у доби експерименту (рис. 4.3; табл. 4.7). Аналогічний вектор змін зазнавав інший прозапальний цитокін, який ми досліджували (IL-6) при цій коморбідності.

Таблиця 4.7 – Вміст ФНП-α у крові тварин в динаміці поєднаної ЕП з АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	ФНП-α в пг-мл.
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$0,46 \pm 0,02$
Тварини з ЕП та АПМ (до лікування)	1-а доба	9	$0,69 \pm 0,04$ $p < 0,05$
	3-я доба	9	$0,72 \pm 0,04$ $p < 0,05$
	6-а доба	9	$0,74 \pm 0,05$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$0,75 \pm 0,05$ $p < 0,05$
Примітка: р – достовірність різниці показників при порівнянні ЕП та АПМ з результатами контрольної групи.			

Було встановлено, що рівень IL-6 зростав в крові в динаміці розвитку поєднаної патології (ЕП і АПМ) на 1-у, 3-ю, 6-у і 14-у доби відповідно на 66,6% ($p < 0,05$), 81,8% ($p < 0,05$), 83,3% ($p < 0,05$) і 80,3% ($p < 0,05$) в порівнянні з першою групою тварин (рис. 4.3; табл. 4.8).

Не менш важливе значення для характеристики стану цитокіногенезу має визначення протизапального цитокіну IL-10 в крові.

Таблиця 4.8 – Вміст ІЛ-6 у крові тварин в динаміці поєднаної ЕП з АПМ
($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	ІЛ-6 в пг-мл
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$0,66 \pm 0,04$
Тварини з ЕП та АПМ (до лікування)	1-а доба	9	$1,1 \pm 0,06$ $p < 0,05$
	3-я доба	9	$1,2 \pm 0,06$ $p < 0,05$
	6-а доба	9	$1,2 \pm 0,06$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$1,1 \pm 0,06$ $p < 0,05$
Примітка: р – достовірність різниці показників при порівнянні ЕП та АПМ з результатами контрольної групи.			

Як показують результати наших досліджень, що коморбідна патологія – ЕП і АПМ (1а, 3-я, 6-а і 14-а доби) супроводжується суттєвим зниженням вмісту ІЛ-10 в крові відповідно на 26,8% ($p < 0,05$), 33,3% ($p < 0,05$), 43,0% ($p < 0,05$), 52,6% ($p < 0,05$) відносно контрольної групи тварин (рис. 4.3; табл. 4.9).

Таким чином, проводячи аналіз результатів імуноферментного дослідження показників цитокіногенезу можна дійти до такого висновку, що ЕП поєднана з АПМ спричиняє помітні порушення цитокінового статусу, які проявляються зростанням вмісту прозапальних на тлі значимого зниження протизапального цитокіну і мають не лише важливе значення для патогенезу розвитку цих експериментальних моделей хвороб, але й впливають, (як описано надалі в інших розділах дисертаційної роботи) на порушення інших молекулярних механізмів пошкодження нирок, що стосується змін процесів

ліпопероксидації, протеолізу, високого рівня стабільних метаболітів оксиду азоту та зниження антиоксидантного захисту і інгібitorного потенціалу в нирках.

Таблиця 4.9 – Вміст IL-10 у крові тварин в динаміці поєднаної ЕП з АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	IL-10 в пг-мл
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$9,3 \pm 0,4$
Тварини з ЕП та АПМ (до лікування)	1-а доба	9	$6,8 \pm 0,2$ $p < 0,05$
	3-я доба	9	$6,2 \pm 0,2$ $p < 0,05$
	6-а доба	9	$5,3 \pm 0,1$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$4,4 \pm 0,1$ $p < 0,05$
Примітка: р – достовірність різниці показників при порівнянні ЕП та АПМ з результатами контрольної групи.			

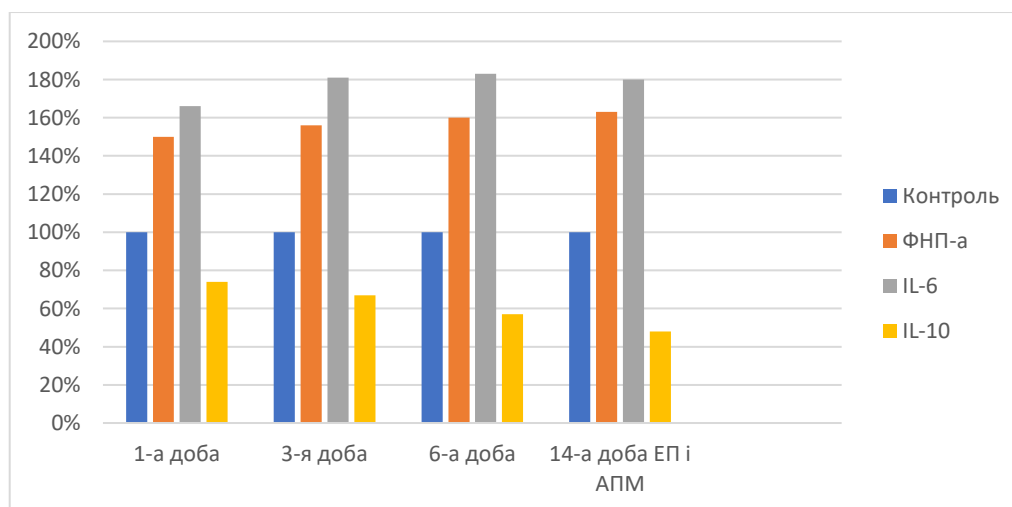


Рисунок 4.3 – Вміст цитокінів у крові тварин в динаміці розвитку ЕП і АПМ (у % від контролю).

4.4. Вплив корвітину на порушені показники цитокінового стану в крові при експериментальній пневмонії асоційованої з адреналіновим пошкодженням міокарда

В останньому підрозділі четвертого розділу дисертації вивчали коригуючий вплив препарату корвітину на дисбаланс показників про- та протизапальних цитокінів у крові на 14-у добу формування експериментальної пневмонії поєднаної з адреналіновим пошкодженням міокарда.

Результати дослідження подані в одному рисунку (4.4) і трьох таблицях (4.10; 4.11; 4.12).

Таблиця 4.10 - Вплив корвітину на рівень ФНП- α у крові тварин при ЕП та АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Кількість тварин	ФНП- α в пг-мл.
Інтактні морські свинки. Контроль	10	$0,46 \pm 0,02$
ЕП та АПМ на 14-у добу експерименту (до лікування)	9	$0,75 \pm 0,05$ $p < 0,05$
ЕП та АПМ на 14-у добу експерименту (після лікування корвітином)	10	$0,51 \pm 0,02$ $p < 0,05$; $p_1 < 0,05$
Примітки: 1. p – достовірність різниці при порівнянні ЕП та АПМ з результатами у контрольній групі; Примітки: 2. p_1 – достовірність різниці при порівнянні показників до та після лікування корвітином (на 14-у добу ЕП та АПМ).		

Одержані нами результати досліджень стосовно дисбалансу, що розвинувся при ЕП поєднаний з АПМ відіграють важливу роль не лише, як механізми пошкодження тканин, але і, як важливі маркери, за якими можна оцінювати активність запального процесу в організмі, служать критеріями для

діагностики цих патологічних процесів, а також є основою для визначення і розробки патогенетичної терапії з метою корекції даних патологій.

Для цього було застосовано протизапальний, кардіопротекторний, імунокоригуючий і антиоксидантний препарат, такий, як корвітин за умов формування цієї коморбідної патології.

Таблиця 4.11 - Вплив корвітину на рівень IL-6 у крові тварин при ЕП та АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Кількість тварин	IL-6 в пг-мл
Інтактні морські свинки. Контроль	10	$0,66 \pm 0,04$
ЕП та АПМ на 14-у добу експерименту (до лікування)	9	$1,1 \pm 0,06$ $p < 0,05$
ЕП та АПМ на 14-у добу експерименту (після лікування корвітином)	10	$0,78 \pm 0,04$ $p < 0,05$; $p_1 < 0,05$
Примітки: 1. p – достовірність різниці при порівнянні ЕП та АПМ з результатами у контрольній групі; Примітки: 2. p_1 – достовірність різниці при порівнянні показників до та після лікування корвітином (на 14-у добу ЕП та АПМ).		

Застосування корвітину у дозі 40 мг/кг маси внутрішньочеревинно 1 раз на добу впродовж 9 діб (з 6-ої по 14-у доби) призводив до зниження вмісту ФНП- α і IL-6 в крові відповідно на 32,0% ($p < 0,05$) і 34,4% ($p < 0,05$) на 14-у добу при АПМ і ЕП в порівнянні з групою тварин до лікування, що свідчило про його цитокінокоригуючий вплив (рис. 4.4; табл. 4.10; 4.11).

Використання корвітину спричинило підвищення вмісту протизапального цитокіну в крові, а саме IL-10 на 70,4% ($p < 0,05$) при ЕП поєднаний з АПМ на 14-у добу експерименту проти групи морських свинок з даними експериментальними моделями хвороб, які не піддавалися впливу цього лікарського середника (рис. 4.4; табл. 4.12).

Таблиця 4.12 - Вплив корвітину на рівень ІЛ-10 у крові тварин при ЕП та АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Кількість тварин	ІЛ-10 в пг-мл
Інтактні морські свинки. Контроль	10	$9,3 \pm 0,4$
ЕП та АПМ на 14-у добу експерименту (до лікування)	9	$4,4 \pm 0,1$ $p < 0,05$
ЕП та АПМ на 14-у добу експерименту (після лікування корвітином)	10	$7,5 \pm 0,3$ $p < 0,05$; $p_1 < 0,05$

Примітки: 1. p – достовірність різниці при порівнянні ЕП та АПМ з результатами у контрольній групі;

Примітки: 2. p_1 – достовірність різниці при порівнянні показників до та після лікування корвітином (на 14-у добу ЕП та АПМ).

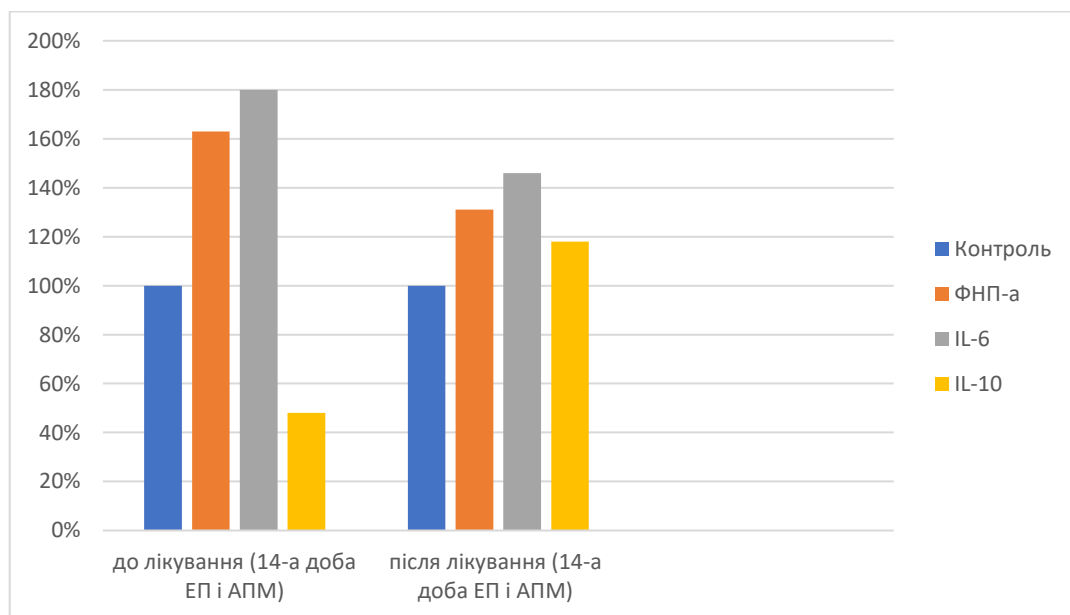


Рисунок 4.4 – Вплив корвітину на дисбаланс цитокінів у крові при коморбідній патології – ЕП і АПМ (у % на 14-у добу експерименту до та після лікування).

Таким чином, як показують результати наших досліджень, що корвітин виявляв протизапальну, кардіопротекторну і цитокінокоригуючу дію за умов

розвитку ЕП асоційованої з АПМ і має перспективу, щодо подальшого його дослідження та ймовірного застосування в пульмонології, кардіології, терапії, як препарату, що коригує цитокіновий дисбаланс, порушені метаболічні процеси.

Отже, на основі отриманих нами результатів імуноферментного дослідження, що описані у четвертому розділі даної дисертаційної роботи були зроблені наступні проміжні висновки:

1. Експериментальна пневмонія на усіх етапах свого розвитку (1-а, 3-я, 6-а, 14-а доби) зумовлює порушення цитокіногенезу, що проявляється послідовним зростанням прозапальних (ФНП- α , ІЛ-6) цитокінів в крові з найбільшим ступенем вираження на 14-у добу експерименту. Водночас вміст протизапального цитокіну ІЛ-10 зазнавав змін, що розвивалися в двох фазах: перша - зростання його рівня на 1-у добу ЕП, а друга - з 3-ої, 6-ої і 14-ої доби ЕП – суттєво зниження проти контрольної групи тварин.

2. Адреналінове пошкодження міокарда (1-а, 3-я, 6-а 14-а доби) супроводжується стабільним зростанням рівня прозапальних цитокінів на тлі помітного зниження протизапального пулу цитокінів в крові з домінуванням цих змін на 3-ю добу проти контролю.

3. Експериментальна пневмонія поєднана з адреналіновим пошкодженням міокарда викликала найбільш виражений дисбаланс цитокінового профілю на усіх етапах нашого спостереження з переважанням на 6-у і 14-у доби експерименту в порівнянні з першою групою тварин.

4. Використання корвітину спричиняло цитокінокоригуючу дію на порушені показники цитокінового статусу в крові за умов даної коморбідної патології на 14-у добу експерименту проти групи тварин з ЕП і АПМ до корекції цим препаратом.

Результати дослідження цього розділу дисертації відображено в одній науковій праці [82].

РОЗДІЛ 5

СТАН ПРООКСИДАНТНОЇ І АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМ У НИРКАХ В ДИНАМІЦІ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПНЕВМОНІЇ ТА АДРЕНАЛІНОВОГО ПОШКОДЖЕННЯ МІОКАРДА В МОРСЬКИХ СВИНОК ТА КОРЕКЦІЯ ЇХ ПОРУШЕНЬ КОРВІТИНОМ

У цьому розділі дисертації розглядаються питання, щодо з'ясування особливостей процесів перекисного окиснення ліпідів та стану антиоксидантного захисту в нирках в тварин у різні періоди (1-а, 3-я, 6-а і 14-а доби) розвитку експериментальної пневмонії та адреналінового пошкодження міокарда окремо та в їх поєднанні до та після застосування препарату корвітину.

Характеризували прооксидантну систему за вмістом ДК і МДА, а АОС за активністю СОД, КТ в нирках в динаміці розвитку ЕП і АПМ.

У цьому контексті численні дослідження свідчать про те, що за фізіологічних умов в організмі є баланс між утворенням вільних радикалів та їх нейтралізацією антиоксидантною системою [1, 3, 4, 23, 33, 42, 62, 69, 110].

Загальновизнаним є той факт, що при запальному процесі утворюються активні метаболіти кисню, які є прооксидантами, що зумовлюють активацію перекисного окиснення ліпідів, яке є одним з важливих механізмів регуляції стану мембран клітин [4, 6, 7, 12, 22, 32, 40, 48, 64, 91].

Патогенний вплив АФК на нирки проявляється тим, що продукти такого окиснення мають властивість безпосередньо збільшувати іонну проникність фосфоліпідного шару клітин. Це зумовлює порушення фосфоліпідного покриву їх мембран та модифікації білкових структур. Тому мітохондрії суттєво втрачають здатність до синтезу АТФ та клітини знаходяться в умовах енергетичного голоду, а згодом механізми загибелі органел, порушення процесів обміну в ендоплазматичному ретикулумі, розрив ланцюгів ДНК та виникають мутації [1, 3, 4, 6, 7, 12, 23, 34, 51, 55, 56, 63, 71, 75, 84, 106].

У цьому зв'язку вивчення ролі ПОЛ і АОС при ЕП і АПМ має важливе значення щодо з'ясування їх патогенного впливу на нирки.

Одержані нами результати досліджень представлені в 16 таблицях та 4 рисунках.

5.1 Порушення балансу прооксидантної і антиоксидантної систем в нирках в динаміці розвитку експериментальної пневмонії

Ряд досліджень вказують на те, що інтенсивність вільнорадикального окиснення є адекватним відображенням запальних процесів [4, 6, 22, 23]. Підвищення кількості продуктів ПОЛ, здатні викликати окиснення різноманітних біосубстратів. Власне цим пошкоджують білки та ліпіди біомембран, інактивують ферменти, змінюють структури макромолекул, цілісність клітин та внутрішньоклітинних органел [6, 7]. Активізація ПОЛ сприяє підвищенню проникності мембран. Останнє спричиняє зростання вмісту БАР, які посилюють та підтримують запальний процес в організмі [6, 7, 32, 40].

Тому вивчення процесів ліпопероксидації і АОС в нирках при ЕП (1-а, 3-я, 6-а і 14-у доби) за вмістом ДК і МДА, та за активністю ферментів СОД, КТ має важливе значення (табл. 5.1-5.4; рис. 5.1).

Результати біохімічних досліджень показали, що на початкових етапах формування ЕП (1-а доба) вміст ДК в нирках не змінювався, знаходився на рівні контролю.

Далі на 3-ю, 6-у і 14-у доби розвитку ЕП відбувалося помітне послідовне зростання вмісту ДК в нирках відповідно на 44,3% ($p<0,05$), 61,3% ($p<0,05$) і 64,7% ($p<0,05$) проти першої групи тварин (табл. 5.1; рис. 5.1).

Одержані нами результати досліджень вказують на поетапне зростання процесів ліпопероксидації починаючи з 3-ої доби, що відповідало розвитку запального процесу в легенях, а згодом і надалі прогресували, набуваючи найвищих цифрових значень на 14-у добу експерименту.

Таблиця 5.1 – Вміст ДК у нирках морських свинок в різні періоди розвитку експериментальної пневмонії ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	ДК в нмоль/(г)
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$8,8 \pm 0,4$
Тварини з ЕП	1-а доба	9	$8,9 \pm 0,4$ $p > 0,05$
	3-я доба	9	$12,7 \pm 0,6$ $p < 0,05$
	6-а доба	9	$14,2 \pm 0,8$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$14,5 \pm 0,8$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ЕП з результатами у контрольній групі.			

Окрім дослідження вмісту ДК також визначали рівень кінцевого продукту перекисного окиснення ліпідів, а саме МДА в нирках в динаміці формування ЕП. Було встановлено, що вміст МДА в нирках на 1-у добу розвитку ЕП не зазнавав достовірних змін. Цей показник був на рівні фізіологічних констант відносно інтактної групи тварин (табл. 5.2; рис. 5.1).

Згодом, починаючи з 3-ої, 6-ої і 14-ої доби ЕП спостерігалось підвищення вмісту МДА в нирках відповідно на 11,8% ($p < 0,05$), 66,2% ($p < 0,05$), 69,8% ($p < 0,05$) в порівнянні з контролем, що свідчило про активізацію процесів ліпопероксидації та патогенний його вплив на нирки (табл. 5.2; рис. 5.1).

Таблиця 5.2 – Вміст МДА в нирках морських свинок в різні періоди розвитку ЕП ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	МДА в нмоль/(г)
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$16,9 \pm 0,8$
Тварини з ЕП	1-а доба	9	$17,1 \pm 0,8$ $p > 0,05$
	3-я доба	9	$18,9 \pm 0,9$ $p < 0,05$
	6-а доба	9	$28,1 \pm 1,2$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$28,7 \pm 1,2$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ЕП з результатами у контрольній групі.			

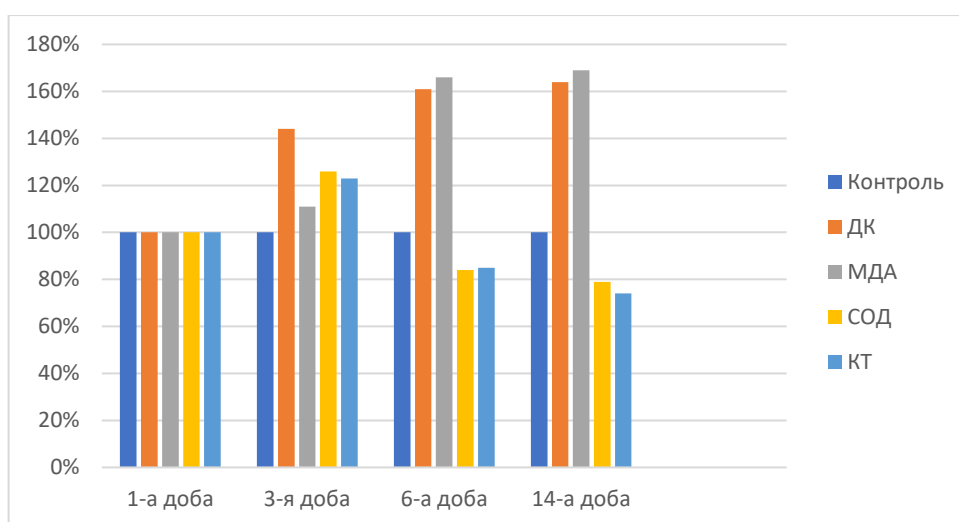


Рисунок 5.1 – Показники прооксидантної і антиоксидантної систем в нирках при ЕП (у % від контролю).

Таким чином, проводячи аналіз досліджень показників первинних і кінцевих продуктів ПОЛ за допомогою визначення ДК і МДА в нирках можна

стверджувати, що ЕП (3-я, 6-а і 14-а доби) супроводжується їх зростанням, що вказувало на послідовну стимуляцію процесів ліпопероксидації, які були найбільше виражені на 6-у і 14-у доби експерименту відносно контролю. Водночас зазначені маркери ПОЛ (ДК, МДА) достовірно не змінювалися на ранніх етапах (1-а доба) розвитку ЕП проти інтактної групи тварин. Встановлено, що активізація процесів вільнорадикального окиснення викликала суттєві порушення щодо активності ферментів антиоксидантної системи при ЕП.

Проте спочатку активність СОД в нирках на 1-у добу розвитку ЕП не змінювалась. Даний ензим був на рівні контролю (табл. 5.3; рис. 5.1).

Таблиця 5.3 – Активність СОД в нирках морських свинок в різні періоди розвитку ЕП ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	СОД в у.о./(Γ)
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$110,1 \pm 3,1$
Тварини з ЕП	1-а доба	9	$111,5 \pm 3,2$ $p > 0,05$
	3-я доба	9	$139,3 \pm 3,6$ $p < 0,05$
	6-а доба	9	$91,5 \pm 2,9$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$86,3 \pm 2,4$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ЕП з результатами у контрольній групі.			

Пізніше, а саме на 3-ю добу формування ЕП активність СОД в нирках зростала на 26,5% ($p < 0,05$) проти контрольної групи тварин, що свідчило про компенсаторну реакцію збоку даного ферменту на надмірне утворення продуктів ПОЛ (табл. 5.3; рис. 5.1). Далі на 6-у і 14-у доби розвитку ЕП відбувалися

протилежні зміни: активність СОД в нирках помітно знижувалася відповідно на 16,8% ($p<0,05$) і 21,6% ($p<0,05$) в порівнянні з інтактною групою тварин (табл. 5.3; рис. 5.1).

Визначення іншого важливого ферменту в нирках ,зокрема КТ показало що активність даного ензиму на 1-у добу ЕП була недостовірною, знаходилась на рівні показників першої групи тварин (табл. 5.4; рис. 5.1).

На 3-ю добу розвитку ЕП спостерігалось підвищення активності КТ в нирках на 23,6% ($p<0,05$) проти контролю (табл. 5.4; рис. 5.1).

У пізній етап (6-а, 14-а доби) формування ЕП відбувалося суттєве зниження активності КТ в нирках відповідно на 15,7% ($p<0,05$) і 26,6% ($p<0,05$) в порівнянні з інтактною групою тварин (табл. 5.4; рис. 5.1).

Таблиця 5.4 – Активність каталази в нирках морських свинок в різні періоди розвитку ЕП ($M\pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	КТ в м.о./г
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$40,6 \pm 2,1$
Тварини з ЕП	1-а доба	9	$41,4 \pm 2,1$ $p>0,05$
	3-я доба	9	$50,2 \pm 2,6$ $p<0,05$
	6-а доба	9	$34,2 \pm 1,7$ $p<0,05$
	14-а доба	9	$29,8 \pm 1,6$ $p<0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ЕП з результатами у контрольній групі.			

Таким чином, одержані нами результати біохімічних досліджень показали, що на ранніх етапах (1-а і 3-я доби) ЕП, активність даних ферментів не

змінювалася, або незначно зростала, що вказувало на компенсаторне їх зростання, а далі на 6-у і 14-у доби експерименту спостерігалось їх помітне зниження, що свідчило про неспроможність ферментативної ланки антиоксидантної системи утилізувати надмірно утворені продукти ПОЛ.

Отже, проводячи аналіз біохімічних досліджень можна стверджувати, що пізній період, що охоплював 6-у і 14-у доби розвитку ЕП супроводжувався суттєвим порушенням балансу між прооксидантною системою, яка поступово активізувалась (зростанням вмісту ДК і МДА) та антиоксидантною системою, яка була пригніченою (зниженням в нирках активності СОД і КТ), що свідчило про розвиток оксидантного стресу, який мав патогенний вплив на нирки за умов формування ЕП.

5.2 Стан ПОЛ і АОС в нирках за умов розвитку адреналінового пошкодження міокарда

Результати біохімічних досліджень виявили стабільне зростання при АПМ (1-а, 3-я, 6-а, 14-а доби) вмісту ДК в нирках відповідно на 47,7% ($p<0,05$), 68,1% ($p<0,05$), 60,2% ($p<0,0$) 59,0% ($p<0,05$) проти контрольної групи тварин (табл. 5.5; рис. 5.2), що свідчило про стимуляцію процесів перекисного окиснення ліпідів.

Визначення вмісту МДА в нирках в динаміці розвитку АПМ (1-а, 3-я, 6-а, 14-а доби) показало постійне підвищення даного показника відповідно на 52,0% ($p<0,05$), 70,4% ($p<0,05$), 43,7% ($p<0,05$) і 42,6% ($p<0,05$) відносно інтактної групи тварин (табл. 5.6; рис. 5.2). Цей показник був стабільно високим з домінуванням його рівня на 3-ю добу експерименту.

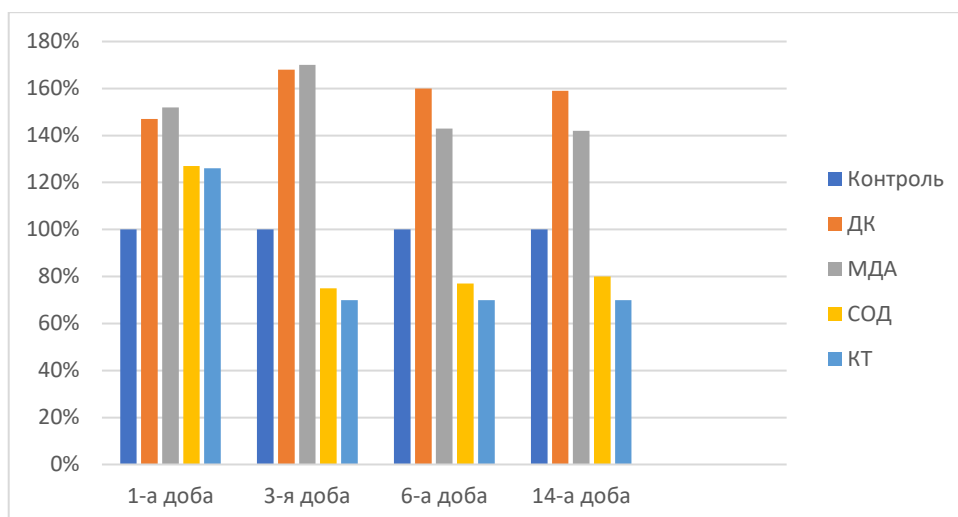


Рисунок 5.2 – Показники прооксидантної і антиоксидантної систем в нирках тварин при АПМ (у % від контролю).

Таблиця 5.5 – Вміст ДК в нирках тварин в динаміці розвитку АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	ДК в нмоль/(г)
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$8,8 \pm 0,4$
Тварини з АПМ	1-а доба	9	$13,0 \pm 0,6$ $p < 0,05$
	3-я доба	9	$14,8 \pm 0,8$ $p < 0,05$
	6-а доба	9	$14,1 \pm 0,7$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$14,0 \pm 0,7$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні АПМ з результатами у контрольній групі.			

Таким чином, проведений нами аналіз отриманих біохімічних досліджень щодо визначення первинних і кінцевих продуктів ПОЛ (ДК і МДА) в нирках в динаміці розвитку АПМ показало їх зростання на усіх етапах формування цієї

експериментальної моделі хвороби з особливою перевагою на 3-ю добу експерименту відносно контролю, що свідчило про надмірне утворення продуктів ліпопероксидації та їх патогенний вплив на нирки і ферментативну систему антиоксидантного захисту.

Таблиця 5.6 – Вміст МДА в нирках тварин в динаміці розвитку АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	МДА в нмоль/(г)
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$16,9 \pm 0,8$
Тварини з АПМ	1-а доба	9	$25,7 \pm 1,1$ $p < 0,05$
	3-я доба	9	$28,8 \pm 1,2$ $p < 0,05$
	6-а доба	9	$24,3 \pm 1,1$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$24,1 \pm 1,1$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні АПМ з результатами у контрольній групі.			

Зокрема на 1-у добу АПМ відбувалося компенсаторне зростання активності СОД в нирках на 27,1% ($p < 0,05$), а далі на 3-ю, 6-у і 14-у доби експерименту спостерігалось пригнічення АОС а саме зниження активності даного ферменту відповідно на 25,1% ($p < 0,05$), 23,5% ($p < 0,05$) і 20,7% ($p < 0,05$) в порівнянні з контрольною групою тварин (табл. 5.7; рис. 5.2).

Важливе значення для більш повноцінної характеристики стану ферментативної ланки антиоксидантного захисту має визначення іншого ферменту, а саме активності КТ в нирках при АПМ.

Таблиця 5.7 – Активність СОД в нирках тварин в динаміці розвитку АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	СОД в у.о./(Γ)
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$110,1 \pm 3,1$
Тварини з АПМ	1-а доба	9	$140,0 \pm 2,7$ $p < 0,05$
	3-я доба	9	$82,1 \pm 2,0$ $p < 0,05$
	6-а доба	9	$84,0 \pm 2,1$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$87,3 \pm 2,2$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні АПМ з результатами у контрольній групі.			

Таблиця 5.8 – Активність КТ в нирках тварин в динаміці розвитку АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	КТ в м.о./(Γ)
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$40,6 \pm 2,1$
Тварини з АПМ	1-а доба	9	$51,3 \pm 2,7$ $p < 0,05$
	3-я доба	9	$28,1 \pm 1,6$ $p < 0,05$
	6-а доба	9	$28,3 \pm 1,6$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$28,2 \pm 1,6$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні АПМ з результатами у контрольній групі.			

Нами встановлено, що на 1-у добу АПМ відбувалося помірне зростання активності КТ в нирках на 26,3% ($p < 0,05$) проти першої групи тварин (табл. 5.8; рис. 5.2), що вказувало на її здатність утилізувати надмірно утворені продукти ПОЛ.

Пізніше на 3-ю, 6-у і 14-у доби цієї експериментальної моделі хвороби було виявлено, що активність КТ в нирках була суттєво зниженою відповідно на 30,7% ($p < 0,05$), 30,2% ($p < 0,05$) і 30,5% ($p < 0,05$) відносно інтактної групи тварин (табл. 5.8; рис. 5.2), що вказувало спочатку на компенсаторне зростання її активності (1-а доба), а далі на помітне пригнічення одного з основних ферментів антиоксидантної системи.

Одержані нами результати досліджень дозволяють зробити висновок про те, що починаючи з третьої і до 14-ої доби АПМ виникає дисбаланс, що проявляється стабільним зростанням процесів ліпопероксидації на тлі помітного виснаження ферментативної ланки антиоксидантної системи, яка не спроможна видаляти надмірно утворені токсичні продукти ПОЛ, що патогенно впливають на нирки за умов цієї експериментальної моделі хвороби.

Властиво цей дисбаланс прооксидантної і антиоксидантної системи посилює перебіг АПМ та залучає один з молекулярних механізмів пошкодження нирок, що охоплює процеси ліпопероксидації і антиоксидантного захисту.

5.3 Стан ПОЛ і АОС в нирках при ЕП та АПМ

Метою третього підрозділу п'ятого розділу дисертаційної роботи було з'ясувати особливості змін показників прооксидантної і антиоксидантної системи в нирках за умов коморбідної патології – ЕП і АПМ та встановити участь одного з молекулярних механізмів, які охоплювали ПОЛ і АОС пошкодження нирок.

Результати біохімічних досліджень вмісту ДК в нирках при ЕП і АПМ в динаміці (1-а, 3-я, 6-а і 14-а доби) їх розвитку показало однонаправлені зміни зазначеного показника, який поступово зростав відповідно на 62,5% ($p<0,05$), 71,5% ($p<0,05$), 79,5% ($p<0,05$) і 82,9% ($p<0,05$) проти контрольної групи тварин (табл. 5.9; рис. 5.3).

Таблиця 5.9 – Вміст ДК в нирках тварин в динаміці формування ЕП та АПМ ($M\pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	ДК в нмоль/(г)
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$8,8 \pm 0,4$
Тварини з поєднаним ЕП та АПМ (до лікування)	1-а доба	9	$14,3 \pm 0,8$ $p<0,05$
	3-я доба	9	$15,1 \pm 0,8$ $p<0,05$
	6-а доба	9	$15,8 \pm 0,9$ $p<0,05$
	14-а доба	9	$16,1 \pm 0,9$ $p<0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ЕП та АПМ з результатами контрольної групи.			

Визначення іншого маркера за яких проводили характеристику змін процесів ліпопероксидації був МДА. Вивчення його показало, що в умовах поєднаної патології ЕП і АПМ на 1-у, 3-ю, 6-у і 14-у доби експерименту відбувається послідовне зростання вмісту МДА в нирках відповідно на 55,5% ($p<0,05$), 62,1% ($p<0,05$), 72,7% ($p<0,05$) і 85,7% ($p<0,05$) в порівнянні з інтактною групою тварин (табл. 5.10; рис. 5.3).

Таблиця 5.10 – Вміст МДА в нирках тварин в динаміці формування ЕП та АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	МДА в нмоль/(г)
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$16,9 \pm 0,8$
Тварини з поєднаним ЕП та АПМ (до лікування)	1-а доба	9	$26,2 \pm 1,2$ $p < 0,05$
	3-я доба	9	$27,4 \pm 1,3$ $p < 0,05$
	6-а доба	9	$29,2 \pm 1,4$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$31,4 \pm 1,5$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ЕП та АПМ з результатами контрольної групи.			

Отже, проводячи аналіз отриманих результатів дослідження, як первинних так і кінцевих продуктів ПОЛ можна стверджувати, що ЕП асоційована з АПМ на усіх етапах їх формування супроводжується поетапним підвищенням процесів ліпопероксидації з найвищим ступенем вираження на 6-у і 14-у доби експерименту, що суттєво змінило реагування ферментативної ланки антиоксидантного захисту.

А саме активність СОД починала знижуватися в нирках з початкових етапів (1-а, 3-я доби) даної коморбідної патології і надалі (6-а і 14-а доби) відповідно на 25,2% ($p < 0,05$), 27,2% ($p < 0,05$), 30,6% ($p < 0,05$) і 37,7% ($p < 0,05$) відносно першої групи тварин (табл. 5.11; рис. 5.3).

Таблиця 5.11 – Активність СОД в нирках тварин в динаміці формування ЕП та АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	СОД в у.о./(г)
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$110,1 \pm 3,1$
Тварини з поєднаним ЕП та АПМ (до лікування)	1-а доба	9	$82,3 \pm 2,1$ $p < 0,05$
	3-я доба	9	$80,1 \pm 2,1$ $p < 0,05$
	6-а доба	9	$76,4 \pm 1,8$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$69,1 \pm 1,6$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ЕП та АПМ з результатами контрольної групи.			

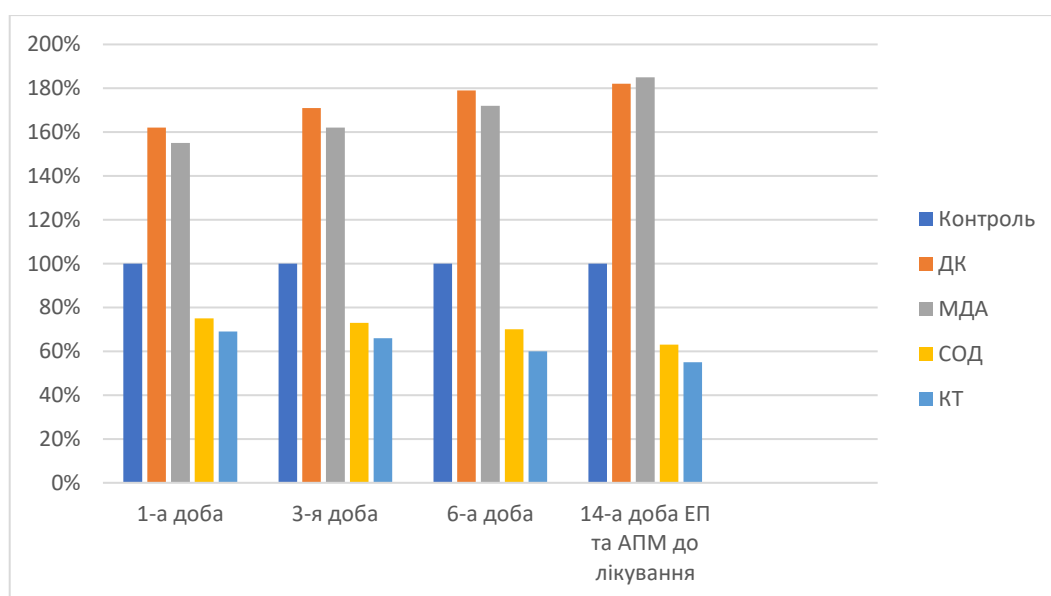


Рисунок 5.3 – Показники прооксидантної і антиоксидантної систем в нирках тварин в динаміці формування ЕП та АПМ (до лікування) (у % від контролю).

Аналогічного вектору зрушень зазнав інший досліджуваний нами фермент, зокрема каталаза. Активність даного ензиму послідовно знижувалась в нирках при ЕП і АПМ (1-а, 3-я, 6-а і 14-а доби) відповідно на 31,2% ($p<0,05$), 34,7% ($p<0,05$), 40,3% ($p<0,05$) і 45,5% ($p<0,05$) проти контрольної групи тварин (табл. 5.12; рис. 5.3), що свідчило про виснаження АОС.

Таблиця 5.12 – Активність КТ в нирках тварин в динаміці формування ЕП та АПМ ($M\pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	КТ в м.о./г
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$40,6 \pm 2,1$
Тварини з поєднаним ЕП та АПМ (до лікування)	1-а доба	9	$27,9 \pm 1,5$ $p<0,05$
	3-я доба	9	$26,5 \pm 1,5$ $p<0,05$
	6-а доба	9	$24,2 \pm 1,4$ $p<0,05$
	14-а доба	9	$22,1 \pm 1,3$ $p<0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ЕП та АПМ з результатами контрольної групи.			

Таким чином, проведені нами біохімічні дослідження показників ПОЛ і АОС в нирках в динаміці розвитку поєднаної патології – ЕП і АПМ дають підставу вважати, що дані експериментальні моделі хвороб проявляються формуванням оксидантного стресу. Було встановлено суттєве зниження активності ключових ферментів (СОД і КТ) на тлі помітного підвищення рівня процесів ліпопероксидації, що є одним з важливих молекулярних (патогенних) механізмів пошкодження нирок, який мав місце на усіх періодах маніфестації цієї коморбідної патології з особливою перевагою на 14-у добу експерименту

Одержані зміни стали основою для доцільності призначення патогенетичної терапії.

5.4 Вплив корвітину на показники ПОЛ та активність ферментів АОС в нирках тварин при ЕП та АПМ

Використання антиоксиданту корвітину при ЕП та АПМ призводило до зниження вмісту ДК на 41,6% ($p < 0,05$) та МДА в нирках на 40,1% ($p < 0,05$) відносно групи тварин з даними поєднаними моделями хвороб на 14-у добу експерименту, що не піддавалися впливу даного препарату (табл. 5.13; 5.14; рис. 5.4).

Таблиця 5.13 – Вплив корвітину на вміст ДК в нирках при ЕП та АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Кількість тварин	ДК в нмоль/(г)
Інтактні морські свинки. Контроль	10	$8,8 \pm 0,4$
ЕП та АПМ на 14-у добу експерименту (до лікування)	9	$16,1 \pm 0,9$ $p < 0,05$
ЕП та АПМ на 14-у добу експерименту (після лікування корвітином)	10	$9,4 \pm 0,5$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$
Примітка 1. p – достовірність різниці при порівнянні ЕП і АПМ з результатами у контрольній групі; Примітка 2. p_1 – достовірність різниці при порівнянні показників до та після лікування корвітином (на 14-у добу ЕП та АПМ).		

Таблиця 5.14 – Вплив корвітину на вміст МДА в нирках при ЕП та АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Кількість тварин	МДА в нмоль/(г)
Інтактні морські свинки. Контроль	10	$16,9 \pm 0,8$
ЕП та АПМ на 14-у добу експерименту (до лікування)	9	$31,4 \pm 1,5$ $p < 0,05$
ЕП та АПМ на 14-у добу експерименту (після лікування корвітином)	10	$18,8 \pm 0,9$ $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$
Примітка 1. p – достовірність різниці при порівнянні ЕП і АПМ з результатами у контрольній групі; Примітка 2. p_1 – достовірність різниці при порівнянні показників до та після лікування корвітином (на 14-у добу ЕП та АПМ).		

Таблиця 5.15 – Вплив корвітину на активність СОД в нирках при ЕП та АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Кількість тварин	СОД в у.о./ (г)
Інтактні морські свинки. Контроль	10	$110,1 \pm 3,1$
ЕП та АПМ на 14-у добу експерименту (до лікування)	9	$69,1 \pm 1,6$ $p < 0,05$
ЕП та АПМ на 14-у добу експерименту (після лікування корвітином)	10	$96,5 \pm 2,9$ $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$
Примітка 1. p – достовірність різниці при порівнянні ЕП і АПМ з результатами у контрольній групі; Примітка 2. p_1 – достовірність різниці при порівнянні показників до та після лікування корвітином (на 14-у добу ЕП та АПМ).		

Застосування корвітину спричиняло антиоксидантний вплив на показники ферментальної ланки антиоксидантної системи. А саме активність СОД і КТ в нирках на 14-у добу ЕП і АПМ під дією корвітину зазнавала значних підвищень відповідно на 39,6% ($p<0,05$) і 68,3% ($p<0,05$) в порівнянні з групою морських свинок з даними моделями хвороб, яким не вводився цей лікарський середник (табл. 5.15; 5.16; рис. 5.4).

Таблиця 5.16 – Вплив корвітину на активність КТ в нирках при ЕП та АПМ ($M\pm m$)

Форма досліджу	Кількість тварин	КТ в м.о./ (г)
Інтактні морські свинки. Контроль	10	$40,6 \pm 2,1$
ЕП та АПМ на 14-у добу експерименту (до лікування)	9	$22,1 \pm 1,3$ $p<0,05$
ЕП та АПМ на 14-у добу експерименту (після лікування корвітином)	10	$37,2 \pm 1,7$ $p<0,05$ $p_1<0,05$
Примітка 1. p – достовірність різниці при порівнянні ЕП і АПМ з результатами у контрольній групі; Примітка 2. p_1 – достовірність різниці при порівнянні показників до та після лікування корвітином (на 14-у добу ЕП та АПМ).		

Отже, як видно з одержаних результатів досліджень, що доцільність застосування корвітину була високою і мало значну антиоксидантну дію, яка проявлялася помітним зниженням продуктів ПОЛ (ДК, МДА) та зростанням активності (СОД, КТ) ферментів антиоксидантної системи в нирках.

Одержані нами результати біохімічних досліджень дають підставу констатувати про те, що завдяки протизапальному, кардіопротекторному та антиоксидантному впливові корвітину зменшувався патогенний вплив одного з визначальних молекулярних (ліпідних) механізмів пошкодження нирок, а також

про доцільність його подальшого використання за умов формування ЕП і АПМ в клініці внутрішніх хвороб – пульмонології, кардіології, нефрології, як одного з препаратів патогенетичної терапії з метою поліпшення суттєво порушених метаболічних процесів в нирках при даних коморбідних патологіях.

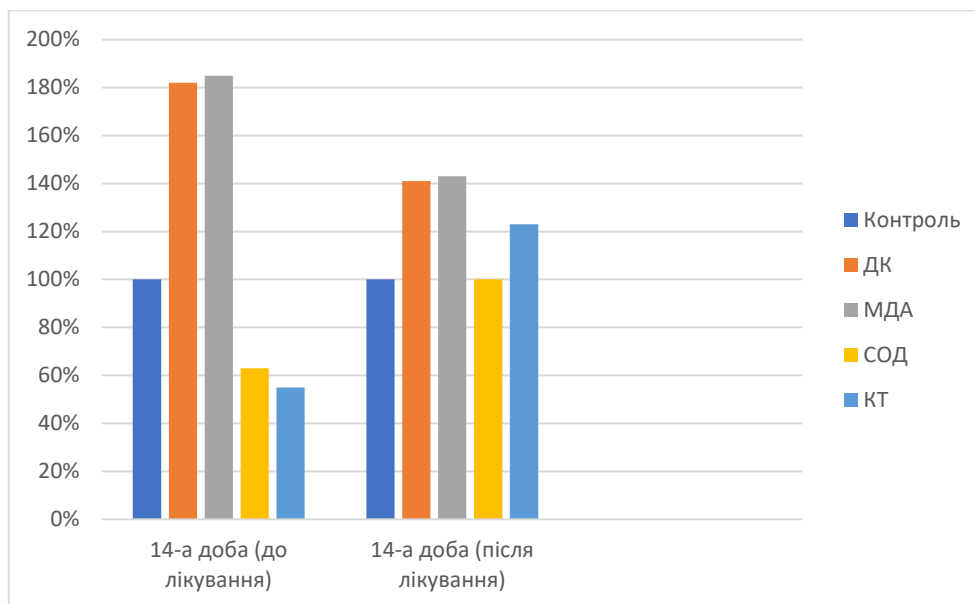


Рисунок 5.4 – Вплив корвітину на показники ПОЛ та активність ферментів АОС в нирках (в % на 14-ту добу до та після лікування) при ЕП та АПМ

На основі одержаних нами результатів біохімічних досліджень п'ятого розділу дисертації були сформульовані наступні проміжні висновки:

1. Експериментальна пневмонія (на 3-ю, 6-у і 14-у доби) супроводжується поступовим зростанням вмісту ДК і МДА в нирках (за винятком групи тварин з ЕП на 1-у добу експерименту) проти контролю. На 3-ю добу маніфестації ЕП відбувалося компенсаторне зростання активності СОД і КТ в нирках, а далі (на 6-у добу і 14-у доби) спостерігалось їх помітне зниження відносно першої групи тварин, що свідчило про розвиток оксидантного стресу.

2. АПМ проявлялося стабільним зростанням рівня ДК і МДА на усіх його етапах формування проти контролю на тлі зниження активності СОД і КТ в нирках починаючи з третьої доби експерименту, що вказувало на наявність оксидантного стресу.

3. Коморбідна патологія (ЕП і АПМ) зумовлювала розвиток оксидантного стресу в нирках на ранніх етапах їх розвитку, починаючи з першої доби експерименту і далі його активність була послідовно зростаючою, що проявлялась підвищенням рівня первинних і кінцевих продуктів ПОЛ на тлі суттєвого зниження активності ферментів з домінуванням на 6-у і 14-у доби експерименту проти контрольної групи тварин (до лікування). Зазначені порушення балансу між ПОЛ і АОС відіграють важливу роль в механізмах пошкодження нирок за умов розвитку ЕП і АПМ.

4. Застосування корвітину спричиняло зниження вмісту ДК і МДА та підвищення активності СОД і КТ в нирках, що свідчило про його антиоксидантний вплив на порушені метаболічні процеси, в нирках за умов формування ЕП і АПМ в порівнянні з групою тварин з даними моделями хвороб до корекції цим лікарським середником.

Результати досліджень цього розділу дисертаційної роботи опубліковані в трьох наукових працях [78, 79, 80].

РОЗДІЛ 6

РОЛЬ ПОРУШЕНЬ СИСТЕМИ ОКСИДУ АЗОТУ В ПАТОГЕНЕЗІ
ПОШКОДЖЕННЯ НИРОК ЗА УМОВ РОЗВИТКУ
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПНЕВМОНІЇ АСОЦІЙОВАНОЇ З
АДРЕНАЛІНОВИМ ПОШКОДЖЕННЯМ МІОКАРДА ТА КОРЕКЦІЯ ЇХ
КОРВІТИНОМ

Як свідчать літературні джерела, що будь-який патологічний процес прямо чи опосередковано пов'язаний із поліфункціональними властивостями оксиду азоту (NO). Тому, що ця молекула є добрим біомаркером щодо можливостей об'єктивної оцінки не лише за умов формування фізіологічних, але й за патологічних процесів живого організму, а також для визначення фармакологічного ефекту при хворобах взагалі [9, 15, 17, 25, 36, 65].

Відомо, що функціонуючи як фізіологічний чи патофізіологічний посередник, NO продукується групою ізоферментів NO-синтаз – сумарних NOS та iNOS, кожна з яких має свої особливості як за механізмом дії, так і за біологічним значенням. Також встановлено, що рівень стабільних метаболітів оксиду азоту залежить від ступеня активності патологічного процесу, тому за рівнем у крові цих метаболітів можна визначати розвиток захворювання і контролювати ефективність фармакокорекції [9, 17, 36, 65, 96, 101].

Виходячи з вищевикладеного у шостому розділі дисертаційної роботи нами вивчалися питання щодо особливостей порушення вмісту показників оксиду азоту – стабільних метаболітів (нітрат і нітрит йонів) NO, сумарних (NOS) і L-аргініну у нирках морських свинок в різні доби формування АПМ та ЕП до та після їх корекції корвітином.

Результати досліджень представлені в 12 таблицях та 4 рисунках.

6.1 Вміст показників системи оксиду азоту в нирках морських свинок за умов формування ЕП

Результати біохімічних досліджень показали, що в динаміці (1-а, 3-я, 6-а, 14-а доба) формування ЕП відбувається послідовне підвищення вмісту стабільних метаболітів NO в нирках відповідно на 38,0% ($p<0,05$), 47,6% ($p<0,05$), 57,1% ($p<0,05$), 76,1% ($p<0,05$) відносно контрольної групи тварин (рис. 6.1; табл. 6.1).

Таблиця 6.1 – Вміст стабільних метаболітів NO в нирках морських свинок в різні періоди розвитку ЕП ($M\pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	Стабільні метаб. NO в мкмоль/л
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$0,021 \pm 0,0002$
Тварини з ЕП	1-а доба	9	$0,029 \pm 0,0002$ $p<0,05$
	3-я доба	9	$0,031 \pm 0,0003$ $p<0,05$
	6-а доба	9	$0,033 \pm 0,0003$ $p<0,05$
	14-а доба	9	$0,037 \pm 0,0003$ $p<0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ЕП з результатами контрольної групи.			

Визначення сумарної активності NOS в нирках дало змогу виявити постійне підвищення її активності на 16,6% ($p<0,05$), 25,0% ($p<0,05$), 25,0% ($p<0,05$), 16,6% ($p<0,05$) відповідно на 1-у, 3-ю, 6-у і 14-у доби розвитку ЕП проти першої групи тварин (рис. 6.1; табл. 6.2), що свідчило про активізацію запального процесу в легенях та в нирках.

Таблиця 6.2 – Активність сумарної (с-NOS) в нирках морських свинок в різні періоди розвитку ЕП ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	с-NOS нмоль НАДФ (хв/мл)
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$0,12 \pm 0,001$
Тварини з ЕП	1-а доба	9	$0,14 \pm 0,001$ $p < 0,05$
	3-я доба	9	$0,15 \pm 0,002$ $p < 0,05$
	6-а доба	9	$0,15 \pm 0,002$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$0,14 \pm 0,002$ $p < 0,05$
Примітка. р – достовірність різниці показників при порівнянні ЕП з результатами контрольної групи.			

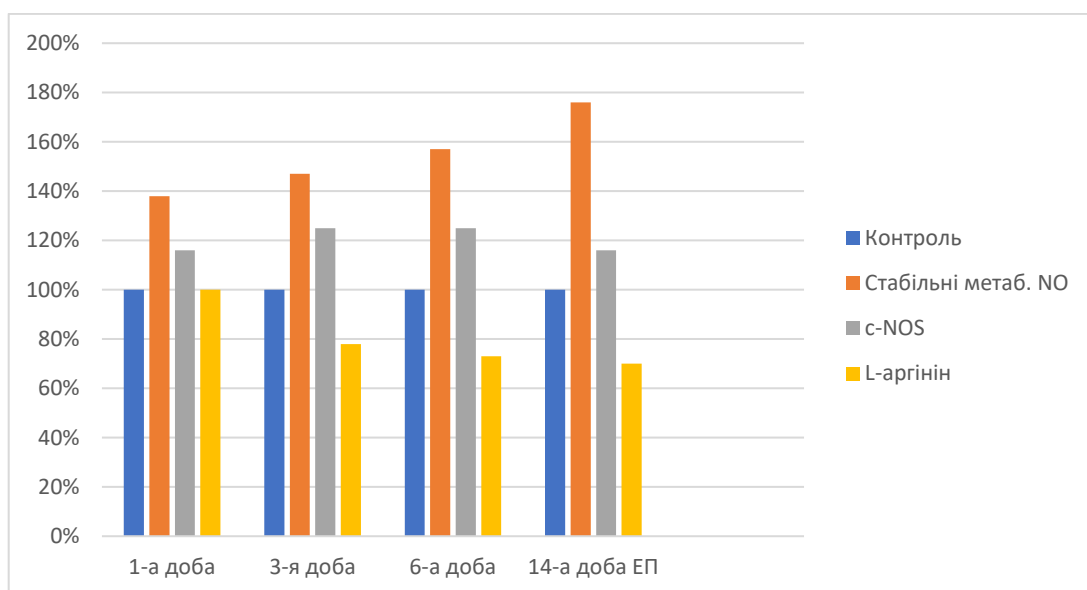


Рисунок 6.1 – Показники системи L-аргінін-оксиду азоту у нирках морських свинок в динаміці формування ЕП (у % від контролю).

Дослідження вмісту L-аргініну в нирках на 1-у добу ЕП показало, що цей показник не змінювався, знаходився на рівні інтактної групи тварин. Пізніше на 3-ю, 6-у і 14-у доби формування ЕП спостерігалось поступове зниження вмісту

L-аргініну в нирках відповідно на 22,5% ($p<0,05$), 27,5% ($p<0,05$), 30,0% ($p<0,05$) проти контролю (рис. 6.1; табл. 6.3). Ці результати можуть вказувати на надмірні витрати L-аргініну, що відбуваються за рахунок підвищених потреб його для синтезу NO, який постійно зростає в динаміці розвитку запального процесу в легенях та ураження нирок.

Таблиця 6.3 – Вміст L-аргініну в нирках морських свинок в різні періоди розвитку ЕП ($M\pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	L-аргінін мкг/мл
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$0,04 \pm 0,0006$
Тварини з ЕП	1-а доба	9	$0,04 \pm 0,0006$ $p>0,05$
	3-я доба	9	$0,031 \pm 0,0003$ $p<0,05$
	6-а доба	9	$0,029 \pm 0,0002$ $p<0,05$
	14-а доба	9	$0,028 \pm 0,0002$ $p<0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ЕП з результатами контрольної групи.			

Таким чином, аналізуючи одержані результати біохімічних досліджень щодо змін маркерів системи оксиду азоту дозволяють стверджувати, що ЕП супроводжується поступовим зростанням стабільних метаболітів NO, сумарної активності NOS на тлі зниження рівня L-аргініну в нирках з найбільшим ступенем їх вираження на 6- і 14-у доби експерименту в порівнянні з контрольною групою тварин. Ці дані засвідчують про вплив запального процесу, гіпоксії, метаболічних порушень на нирки в умовах експериментальної пневмонії.

Виняток становила перша дослідна група, яка включала 1-у добу розвитку ЕП, в якій рівень L-аргініну в нирках був в межах контрольної групи тварин, не зазнавав достовірних змін (рис. 6.1; табл. 6.3).

Отже, маніфестація запального процесу в легенях запускає механізми пошкодження нирок, які були виявлені на усіх етапах нашого спостереження з домінуванням їх у пізній період.

6.2 Стан системи оксиду азоту у нирках в різні періоди розвитку АПМ

АПМ зумовлює зміни показників NO в нирках на всіх періодах його формування. А саме вміст стабільних метаболітів NO в нирках зростає на 1-у добу АПМ на 52,3% ($p<0,05$) проти контролю (табл. 6.4; рис. 6.2).

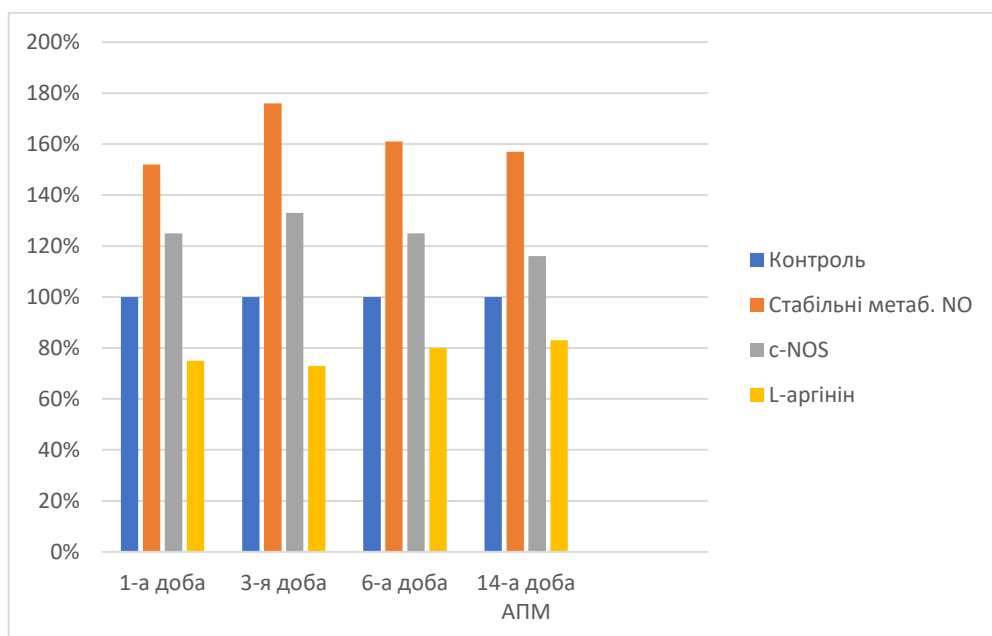


Рисунок 6.2 – Вміст показників системи L-аргінін-оксиду азоту у нирках морських свинок в динаміці формування АПМ (у % від контролю).

Ще більших значень цей показник набуває на 3-ю добу експерименту. Він підвищується в нирках на 76,1% ($p<0,05$) відносно інтактної групи тварин. А далі (6-а, 14-а доба) прогресування даного маркера не виявлено, проте рівень стабільних метаболітів NO в нирках залишався високим, відповідно зростав на 61,9% ($p<0,05$) і 57,1% ($p<0,05$) проти першої групи тварин (табл. 6.4; рис. 6.2).

Таблиця 6.4 – Вміст стабільних метаболітів NO в нирках морських свинок в різні періоди розвитку АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	Стабільні метаб. NO в мкмоль/л
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$0,021 \pm 0,0002$
Тварини з АПМ	1-а доба	9	$0,032 \pm 0,0003$ $p < 0,05$
	3-я доба	9	$0,037 \pm 0,0003$ $p < 0,05$
	6-а доба	9	$0,034 \pm 0,0003$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$0,033 \pm 0,0003$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні АПМ з результатами контрольної групи.			

Таблиця 6.5 – Активність сумарної (с-NOS) в нирках морських свинок в різні періоди розвитку АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	с-NOS нмоль НАДФ (хв/мл)
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$0,12 \pm 0,001$
Тварини з АПМ	1-а доба	9	$0,15 \pm 0,002$ $p < 0,05$
	3-я доба	9	$0,16 \pm 0,002$ $p < 0,05$
	6-а доба	9	$0,15 \pm 0,002$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$0,14 \pm 0,002$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні АПМ з результатами контрольної групи.			

Не менш інформативне значення для виявлення механізмів пошкодження нирок має дослідження сумарної активності NOS. Встановлено, що в процесі (1-а, 3-я, 6-а і 14-а доби) відбувалося підвищення її активності в нирках відповідно на 25,0% ($p<0,05$), 33,3% ($p<0,05$), 25,0% ($p<0,05$) і 16,6% ($p<0,05$) в порівнянні з контролем (рис. 6.2; табл. 6.5).

Протилежних змін по відношенню до попередніх описаних показників зазнавав рівень L-аргініну в нирках, який був стабільно зниженим на усіх періодах розвитку АПМ. Зокрема вміст L-аргініну знижувався на 25,0% ($p<0,05$), 27,5% ($p<0,05$), 20,0% ($p<0,05$), 17,5% ($p<0,05$) при АПМ відповідно на 1-у, 3-ю, 6-у і 14-у доби експерименту проти контрольної групи тварин (табл. 6.6; рис. 6.2).

Таблиця 6.6 – Вміст L-аргініну в нирках морських свинок в різні періоди розвитку АПМ ($M\pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	L-аргінін мкг/мл
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$0,04 \pm 0,0006$
Тварини з АПМ	1-а доба	9	$0,030 \pm 0,0003$ $p<0,05$
	3-я доба	9	$0,029 \pm 0,0002$ $p<0,05$
	6-а доба	9	$0,032 \pm 0,0003$ $p<0,05$
	14-а доба	9	$0,033 \pm 0,0003$ $p<0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні АПМ з результатами контрольної групи.			

Таким чином, проведені нами комплексні біохімічні дослідження показників системи оксиду азоту показали, що АПМ спричиняє різновекторні зміни NO, а саме перманентне підвищення стабільних метаболітів NO і сумарної активності NOS на тлі зниження рівня L-аргініну з перевагою на 3-ю добу експерименту.

6.3 Порушення системи L-аргінін-оксиду азоту в нирках за умов поєднаного розвитку ЕП та АПМ

Особливе значення для характеристики механізмів пошкодження нирок та визначення шляхів патогенетичної фармакологічної корекції стосовно порушень показників системи NO має вплив на нирки наявність коморбідної патології – ЕП і АПМ, при яких є виражена дія запального процесу, гіпоксії і некрозу серцевого м'язу. В динаміці формування (1-а, 3-я, 6-а, 14-а доби) АПМ і ЕП відбувалися прогресуючі зміни стабільних метаболітів NO в нирках відповідно зростали на 71,4% ($p<0,05$), 80,5% ($p<0,05$), 85,7% ($p<0,05$) і 90,4% ($p<0,05$) проти інтактної групи тварин (рис. 6.3; табл. 6.7).

Таблиця 6.7 – Вміст стабільних метаболітів NO в нирках морських свинок в різні періоди розвитку ЕП та АПМ ($M\pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	Стабільні метаб. NO Мкмоль/л
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$0,021 \pm 0,0002$
Тварини ЕП та АПМ (до лікування)	1-а доба	9	$0,036 \pm 0,0003$ $p<0,05$
	3-я доба	9	$0,038 \pm 0,0004$ $p<0,05$
	6-а доба	9	$0,039 \pm 0,0004$ $p<0,05$
	14-а доба	9	$0,04 \pm 0,0004$ $p<0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ЕП та АПМ з результатами контрольної групи			

Велике значення для механізмів пошкодження нирок має з'ясування особливостей змін сумарної активності NOS в умовах розвитку коморбідної патології. А саме було встановлено постійне зростання сумарної активності NOS в нирках при АПМ і ЕП (1-а, 3-я, 6-а і 14-а доби) відповідно на 33,3% ($p<0,05$),

50,0% ($p<0,05$), 41,6% ($p<0,05$) і 58,3% ($p<0,05$) відносно першої групи тварин (табл. 6.8; рис. 6.3), що свідчило про прогресування коморбідної патології та участь механізмів пошкодження нирок, яку оцінювали за суттєвим зрушенням системи NO.

Таблиця 6.8 – Активність сумарної (с-NOS) в нирках морських свинок в різні періоди розвитку ЕП та АПМ ($M\pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	с-NOS нмоль НАДФ (хв/мл)
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$0,12 \pm 0,001$
Тварини ЕП та АПМ (до лікування)	1-а доба	9	$0,16 \pm 0,002$ $p<0,05$
	3-я доба	9	$0,18 \pm 0,002$ $p<0,05$
	6-а доба	9	$0,17 \pm 0,003$ $p<0,05$
	14-а доба	9	$0,19 \pm 0,004$ $p<0,05$
Примітка. р – достовірність різниці показників при порівнянні ЕП та АПМ з результатами контрольної групи			

Маніфестація (1-а, 3-я, 6-а, 14-а доби) АПМ поєднаного з ЕП супроводжувалося помітним зниженням вмісту L-аргініну в нирках відповідно на 17,5% ($p<0,05$), 27,5% ($p<0,05$), 32,5% ($p<0,05$) і 35,0% ($p<0,05$) проти контрольної групи тварин (рис. 6.3; табл. 6.9).

Зниження рівня L-аргініну за умов коморбідної патології може вказувати на високі витрати його, що відбуваються за його участю на синтез і зростання сумарної активності NOS в нирках.

Таблиця 6.9 – Вміст L-аргініну в нирках морських свинок в різні періоди розвитку ЕП та АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	L-аргінін мкг/мл
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$0,04 \pm 0,0006$
Тварини ЕП та АПМ (до лікування)	1-а доба	9	$0,029 \pm 0,0002$ $p < 0,05$
	3-я доба	9	$0,027 \pm 0,0002$ $p < 0,05$
	6-а доба	9	$0,026 \pm 0,0002$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$0,022 \pm 0,0002$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ЕП та АПМ з результатами контрольної групи			

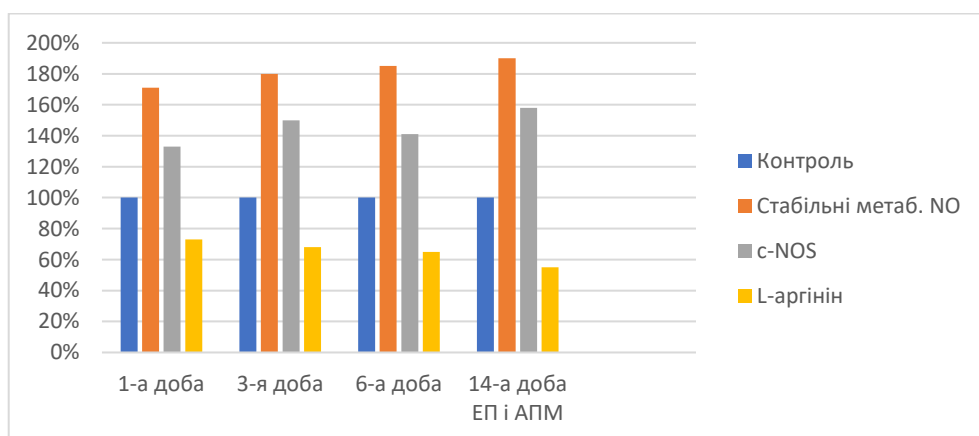


Рисунок 6.3 – Порушення системи L-аргінін-NO в нирках при ЕП і АПМ (у % від контролю).

Таким чином, аналізуючи отримані нами результати біохімічних досліджень дозволяють зробити висновок про те, що коморбідна патологія, яка представлена АПМ і ЕП спричиняє більш суттєві зрушення показників системи NO в нирках, особливо на 14-у добу експерименту ніж за умов їх ізольованого перебігу відносно контролю та служить вагомим підґрунтям для застосування патогенетичної терапії, а саме препарату корвітину.

6.4 Вплив корвітину на зміни показників системи оксиду азоту в нирках морських свинок при ЕП та АПМ

З метою корекції порушених метаболічних процесів, які стосувалися змін показників системи NO в нирках при коморбідній патології (ЕП і АПМ) був застосований препарат корвітин, який має протизапальні, антигіпоксичні, антиоксидантні, гапто і рено-, кардіопротекторні властивості. Показано, що корвітин призводив до зниження вмісту стабільних метаболітів NO і сумарної активності NOS в нирках відповідно на 22,5% ($p < 0,05$) і 26,3% ($p < 0,05$) при ЕП і АПМ на 14-у добу експерименту відносно груп тварин з даними моделями хвороб, які не піддавалися впливу цього лікарського середника (табл. 6.10; 6.11; рис. 6.4).

Таблиця 6.10 – Вплив корвітину на вміст стабільних метаболітів NO в нирках морських свинок при ЕП та АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Кількість тварин	Стабільні метаб. NO в мкмоль/л
Інтактні морські свинки. Контроль	10	$0,021 \pm 0,0002$
ЕП та АПМ на 14-у добу експерименту (до лікування)	9	$0,04 \pm 0,0004$ $p < 0,05$
ЕП та АПМ на 14-у добу експерименту (після лікування корвітином)	10	$0,031 \pm 0,0004$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$
Примітки. 1. p – достовірність різниці при порівнянні ЕП та АПМ з результатами у контрольній групі; 2. p_1 – достовірність різниці при порівнянні показників до та після лікування корвітином (на 14-у добу ЕП та АПМ).		

Таблиця 6.11 – Вплив корвітину на активність сумарної (сNOS) у нирках морських свинок при ЕП та АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Кількість тварин	с-NOS нмоль НАДФ (хв/мл)
Інтактні морські свинки. Контроль	10	$0,12 \pm 0,001$
ЕП та АПМ на 14-у добу експерименту (до лікування)	9	$0,19 \pm 0,004$ $p < 0,05$
ЕП та АПМ на 14-у добу експерименту (після лікування корвітином)	10	$0,14 \pm 0,002$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$
Примітки. 1. p – достовірність різниці при порівнянні ЕП та АПМ з результатами у контрольній групі; 2. p_1 – достовірність різниці при порівнянні показників до та після лікування корвітином (на 14-у добу ЕП та АПМ).		

Застосування корвітину тваринам спричиняло підвищення вмісту L-аргініну в нирках на 45,4% ($p < 0,05$) при АПМ і ЕП на 14-у добу експерименту проти групи морських свинок з цими коморбідними патологіями, яким не вводився даний препарат (табл. 6.12; рис. 6.4).

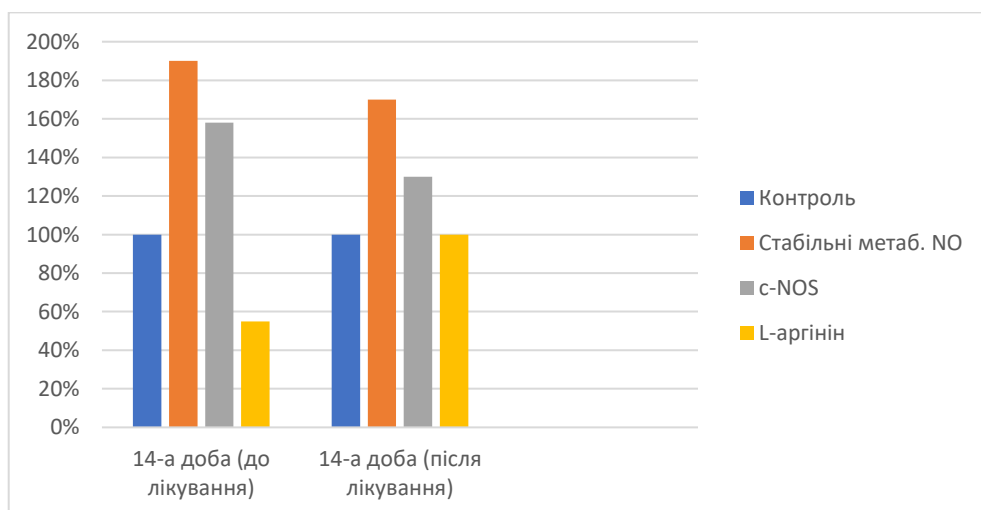


Рисунок 6.4 – Вплив корвітину на показники системи L-аргінін-оксиду азоту у нирках морських свинок (в % на 14-ту добу до та після лікування) при ЕП і АПМ

Таблиця 6.12 – Вплив корвітину на вміст L-аргініну у нирках морських свинок при ЕП та АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Кількість тварин	L-аргінін мкг/мл
Інтактні морські свинки. Контроль	10	$0,04 \pm 0,006$
ЕП та АПМ на 14-у добу експерименту (до лікування)	9	$0,022 \pm 0,0002$ $p < 0,05$
ЕП та АПМ на 14-у добу експерименту (після лікування корвітином)	10	$0,32 \pm 0,0003$ $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$
Примітки. 1. p – достовірність різниці при порівнянні ЕП та АПМ з результатами у контрольній групі; 2. p_1 – достовірність різниці при порівнянні показників до та після лікування корвітином (на 14-у добу ЕП та АПМ).		

Отже, проведені дослідження дають підставу констатувати, що корвітин виявляє нефропротекторний вплив на показники системи NO в нирках за умов ЕП поєднаної з АПМ.

На підставі одержаних нами результатів біохімічних досліджень стосовно змін маркерів NO в нирках при АПМ і ЕП до та після застосування корвітину, що описана у шостому розділі дисертації можна дійти до наступних проміжних висновків:

1. Експериментальна пневмонія на усіх етапах свого розвитку (1-а, 3-я, 6-а, 14-а доби) зумовлює суттєві порушення показників системи оксиду азоту в нирках, а саме поступове підвищення стабільних метаболітів NO і активності NOS на тлі помітного зниження вмісту L-аргініну, що переважали на 6-у і 14-у доби експерименту проти контролю. Виняток становила 1-а доба ЕП в якій рівень L-аргініну в нирках був на рівні контролю.

2. АПМ викликає перманентне зростання стабільних метаболітів NO та активність NOS в умовах зниження рівня L-аргініну в нирках на усіх етапах нашого спостереження з домінуванням на 3-ю добу експерименту в порівнянні з першою групою тварин.

3. На усіх етапах коморбідної патології, яка включала ЕП і АПМ (1-а, 3-я, 6-а і 14-а доби) відбувалося прогресуюче зростання рівня стабільних метаболітів NO і активності NOS на тлі суттєвого зниження вмісту L-аргініну в нирках, що переважали особливо на 14-у добу проти контрольної групи тварин. Це вказувало на включення патогенних механізмів пошкодження нирок за участі виражених порушень системи оксиду азоту спричиненої запаленням, гіпоксією, ішемією і некрозом серцевого м'яза.

4. Застосування корвітину зумовлювало нефропротекторний вплив на показники системи оксиду азоту в нирках, який проявлявся зниженням вмісту стабільних метаболітів NO і активності NOS та зростанням рівня L-аргініну на 14-у добу розвитку коморбідної патології в порівнянні з групою тварин в яких були АПМ і ЕП до лікування.

Результати досліджень цього розділу дисертації відображено в одній науковій праці автора [170].

РОЗДІЛ 7

РОЛЬ ПОРУШЕНЬ ПРОЦЕСІВ ПРОТЕОЛІЗУ і АНТИПРОТЕАЗНОГО ПОТЕНЦІАЛУ В МЕХАНІЗМАХ ПОШКОДЖЕННЯ НИРОК ЗА УМОВ ФОРМУВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ПНЕВМОНІЇ АСОЦІЙОВАНОЇ З АДРЕНАЛІНОВИМ ПОШКОДЖЕННЯМ МІОКАРДА ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ КОРВІТИНОМ

Ряд літературних джерел вказують на те, що, незалежно від етіології первинного ураження, нирки зазнають різноманітних модифікацій – біохімічних, гемодинамічних, молекулярно-клітинних. Сукупність цих змін, підсилена дією активних форм кисню. Це призводить до порушень у рівновазі протеїназно-інгібіторної системи, як однієї з визначальних систем, що контролює гомеостаз [9, 15, 36, 52, 83, 92]. Дисбаланс у цій системі характеризується переважанням процесів катаболізму протеїнів, які виконують структурні (компоненти клітинних мембран) та транспортні (взаємодія з різноманітними сполуками і їх перенесення) функції [9, 36, 52, 68, 83, 92]. Цей метаболічний дисонанс не лише сприяє посиленню симптоматики ЕП та АПМ з подальшим ушкодженням тканинних структур, але може бути універсальним показником інтоксикації при розгортанні патологічного процесу в даному органі.

У цьому зв'язку вивчення особливостей порушень процесів протеолізу і антипротеазного потенціалу в нирках в динаміці розвитку ЕП і АПМ до та після застосування корвітину має важливе значення для з'ясування механізмів пошкодження нирок при даних коморбідних патологіях.

Результати наших досліджень представлені в 20 таблицях та 4 рисунках.

7.1 Стан протеїназно-інгібіторної системи в нирках при ЕП

З метою з'ясування особливостей змін протеїназно-інгібіторної системи в динаміці розвитку ЕП досліджували вміст азоальбуміну, азоказеїну, азоколагену та альфа1-ПІ, альфа2- М в нирках.

Встановлено, що в динаміці (1-а, 3-я, 6-а, 14-а доби) формування ЕП спостерігалось поступове зростання місту азоальбуміну в нирках відповідно на 22,9% ($p<0,05$), 25,6% ($p<0,05$), 72,9% ($p<0,05$) і 71,6% ($p<0,05$) проти контрольної групи тварин (табл. 7.1; рис. 7.1).

Таблиця 7.1 – Вміст азоальбуміну в нирках у тварин при ЕП ($M\pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	Азоальбумін мл-1 год-1
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$7,4 \pm 0,6$
Тварини з ЕП	1-а доба	9	$9,1 \pm 0,7$ $p<0,05$
	3-я доба	9	$9,3 \pm 0,8$ $p<0,05$
	6-а доба	9	$12,8 \pm 1,0$ $p<0,05$
	14-а доба	9	$12,7 \pm 1,0$ $p<0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ЕП з результатами контрольної групи.			

Визначення вмісту азоказеїну в нирках на 1-у, 3-ю, 6-у і 14-у доби ЕП показало його підвищення відповідно на 28,7% ($p<0,05$), 31,5% ($p<0,05$), 83,5% ($p<0,05$), 80,8% ($p<0,05$) відносно інтактної групи тварин (табл. 7.2; рис. 7.1).

Одержані нами результати біохімічних досліджень вказують на стабільне зростання протеолітичних процесів у нирках на усіх етапах розвитку ЕП.

Таблиця 7.2 – Вміст азоказеїну в нирках у тварин при ЕП ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	Азоказеїн мл-1 год-1
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$7,3 \pm 0,6$
Тварини з ЕП	1-а доба	9	$9,4 \pm 0,8$ $p < 0,05$
	3-я доба	9	$9,6 \pm 0,8$ $p < 0,05$
	6-а доба	9	$13,4 \pm 1,0$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$13,2 \pm 1,0$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ЕП з результатами контрольної групи.			

Дослідження вмісту азоколагену в нирках в динаміці формування ЕП (1-а, 3-я, 6-а, 14-а доби) виявлено його підвищення відповідно на 68,4% ($p < 0,05$), 73,6% ($p < 0,05$), 89,4% ($p < 0,05$), 84,2% ($p < 0,05$) в порівнянні з першою групою тварин (табл. 7.3; рис. 7.1).

%

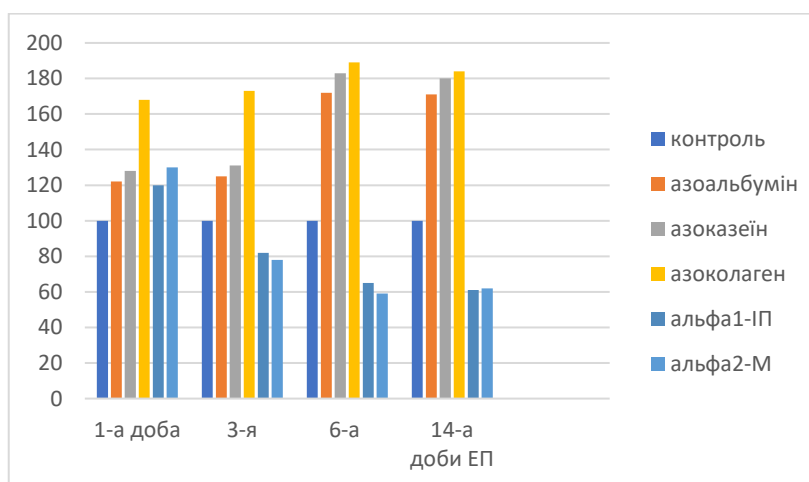


Рисунок 7.1 – Вміст продуктів протеолізу та антипротеазного потенціалу в нирках при ЕП (% від контролю).

Таблиця 7.3 – Вміст азоколагену в нирках у тварин при ЕП ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	Азоколаген мл-1 год-1
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$1,9 \pm 0,1$
Тварини з ЕП	1-а доба	9	$3,2 \pm 0,2$ $p < 0,05$
	3-я доба	9	$3,3 \pm 0,2$ $p < 0,05$
	6-а доба	9	$3,6 \pm 0,2$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$3,5 \pm 0,2$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ЕП з результатами контрольної групи.			

Таким чином, проведені нами біохімічні дослідження показали, що рівень азоальбуміну, азоказеїну і азоколагену поступово зростає, що свідчило про прогресивне підвищення протеолітичних процесів за умов розвитку ЕП, яке особливо домінувало на 6-у і 14-у доби експерименту.

Така виражена стабільна активізація протеолізу викликала неоднаправлені зміни показників антипротеазного потенціалу в нирках при ЕП.

Дослідження вмісту альфа2-М в нирках на 1-у добу розвитку ЕП показало помітне його зростання на 30,2% ($p < 0,05$) в порівнянні із інтактною групою тварин. Далі на 3-ю, 6-у і 14-у доби ЕП спостерігалось достовірне зниження його вмісту в нирках відповідно на 22,9% ($p < 0,05$), 41,9% ($p < 0,05$), 38,5% ($p < 0,05$) відносно контролю (табл. 7.4; рис. 7.1), що свідчило про пригнічення антипротеазного потенціалу.

Аналогічні зміни відбувалися з іншим показником, що належить до антипротеазного потенціалу, а саме альфа1-ІІІ.

Таблиця 7.4 – Вміст альфа2-М в нирках у тварин при ЕП ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	альфа2-М г/л
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$9,6 \pm 0,7$
Тварини з ЕП	1-а доба	9	$12,5 \pm 0,8$ $p < 0,05$
	3-я доба	9	$7,4 \pm 0,5$ $p < 0,05$
	6-а доба	9	$5,6 \pm 0,4$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$5,9 \pm 0,4$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ЕП з результатами контрольної групи.			

Таблиця 7.5 – Вміст альфа1-ІІІ в нирках у тварин при ЕП ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	альфа1-ІІІ мкмоль/л
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$159,1 \pm 9,4$
Тварини з ЕП	1-а доба	9	$191,2 \pm 10,1$ $p < 0,05$
	3-я доба	9	$130,1 \pm 9,2$ $p < 0,05$
	6-а доба	9	$102,4 \pm 7,1$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$96,4 \pm 6,5$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ЕП з результатами контрольної групи.			

Так, спочатку на 1-у добу формування ЕП відбувалося незначне підвищення вмісту альфа1- ПІ на 20,1% ($p<0,05$) проти контролю. Пізніше на 3-ю, 6-у і 14-у доби ЕП спостерігалось зниження рівня альфа 1- ПІ в нирках відповідно на 18,2% ($p<0,05$), 35,6% ($p<0,05$), 39,4% ($p<0,05$) відносно першої групи тварин (табл. 7.5; рис. 7.1).

Аналізуючи весь комплекс біохімічних досліджень можна стверджувати, що розвиток дисбалансу між протеїназною і антипротеазною системою, а саме процеси протеолізу, які поступово зростали на тлі зниження показників інгібіторного потенціалу, були найбільше виражені на 6-у і 14-у доби формування ЕП. Водночас на початку 1-ї доби експерименту спостерігалось компенсаторна реакція збоку антипротеазного потенціалу, який зростав, а пізніше зазнавав суттєвих знижень.

7.2 Стан протеїназно-інгібіторної системи в нирках в динаміці розвитку АПМ

Метою даного підрозділу сьомого розділу дисертаційної роботи було з'ясувати особливості змін ППС в нирках в динаміці розвитку АПМ. Було встановлено, що вміст азоальбуміну постійно зростав при АПМ (1-а, 3-я, 6-а і 14-а доби) відповідно на 59,4% ($p<0,05$), 85,1% ($p<0,05$), 60,8% ($p<0,05$) і 54,0% ($p<0,05$) проти контрольної групи тварин (табл. 7.6; рис. 7.2).

Дослідження іншого показника за яким характеризували стан протеолізу був азоказеїн в нирках при АПМ.

Маніфестація (1-а, 3-я, 6-а і 14-а доби) АПМ супроводжувалася однонаправленими змінами вмісту азоказеїну, який стабільно зростав відповідно на 72,6% ($p<0,05$), 90,4% ($p<0,05$), 69,8% ($p<0,05$) і 65,7% ($p<0,05$) відносно інтактної груп тварин (табл. 7.7; рис. 7.2).

Третім показником за яким проводили оцінку стану протеолізу був азоколаген в нирках при АПМ.

Таблиця 7.6 – Вміст азоальбуміну в нирках у тварин при АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	Азоальбумін мл-1 год-1
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$7,4 \pm 0,6$
Тварини з АПМ	1-а доба	9	$11,8 \pm 1,0$ $p < 0,05$
	3-я доба	9	$12,1 \pm 1,0$ $p < 0,05$
	6-а доба	9	$11,9 \pm 1,0$ $p > 0,05$
	14-а доба	9	$11,4 \pm 1,0$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні АПМ з результатами контрольної групи.			

Таблиця 7.7 – Вміст азоказеїну в нирках у тварин при АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	Азоказеїн мл-1 год-1
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$7,3 \pm 0,6$
Тварини з АПМ	1-а доба	9	$12,6 \pm 1,0$ $p < 0,05$
	3-я доба	9	$13,9 \pm 1,0$ $p < 0,05$
	6-а доба	9	$12,4 \pm 1,0$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$12,1 \pm 1,0$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні АПМ з результатами контрольної групи.			

Виявлено, що в динаміці розвитку (1-а, 3-я, 6-а і 14-а доби) АПМ спостерігалось перманентне підвищення вмісту азоколагену в нирках відповідно на 89,4% ($p < 0,05$), 94,7% ($p < 0,05$), 84,2% ($p < 0,05$), 78,9% ($p < 0,05$) в порівнянні з першою групою тварин (табл. 7.8; рис. 7.2).

Таблиця 7.8 – Вміст азоколагену в нирках у тварин при АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	Азоколаген мл-1 год-1
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$1,9 \pm 0,1$
Тварини з АПМ	1-а доба	9	$3,6 \pm 0,1$ $p < 0,05$
	3-я доба	9	$3,7 \pm 0,1$ $p < 0,05$
	6-а доба	9	$3,5 \pm 0,1$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$3,4 \pm 0,1$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні АПМ з результатами контрольної групи.			

Таблиця 7.9 – Вміст альфа2-М в нирках у тварин при АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	альфа2-М г/л
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$9,6 \pm 0,7$
Тварини з АПМ	1-а доба	9	$5,8 \pm 0,4$ $p < 0,05$
	3-я доба	9	$5,4 \pm 0,4$ $p < 0,05$
	6-а доба	9	$5,9 \pm 0,4$ $p > 0,05$
	14-а доба	9	$6,0 \pm 0,4$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні АПМ з результатами контрольної групи.			

Таким чином, проведені нами біохімічні дослідження показників ППС показали стабільне зростання рівня азоальбуміну, азоколагену, азоказеїну, що

вказувало на активізацію протеолітичних процесів, яке спостерігалось на усіх етапах розвитку АПМ з особливою перевагою на 3-ю добу експерименту проти контрольної групи тварин. Надмірна стимуляція протеолізу викликала суттєві порушення показників інгібаторної системи.

Визначення одного з показників з інгібаторного потенціалу був альфа2-М. Було виявлено, що в динаміці формування АПМ (1-а, 3-я, 6-а і 14-а доби) спостерігалось зниження його рівня відповідно в нирках на 39,5% ($p<0,05$), 43,7% ($p<0,05$), 38,5% ($p<0,05$), 37,5% ($p<0,05$) проти інтактної групи тварин (табл. 7.9; рис. 7.2), що свідчило про зниження активності антипротеазного потенціалу.

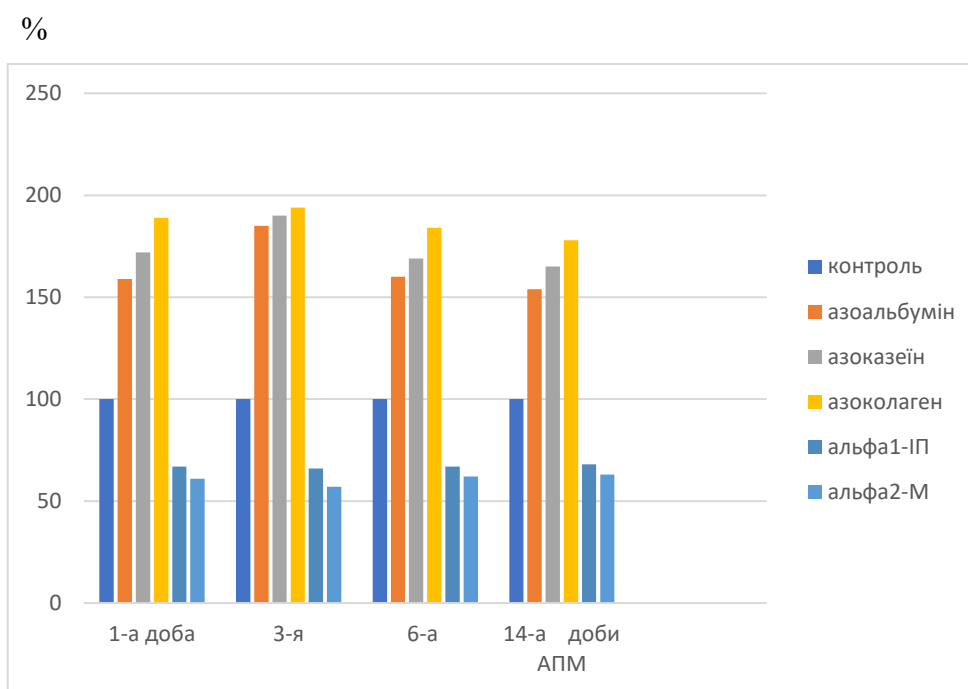


Рисунок 7.2 – Стан змін ПІС в нирках при АПМ (% від контролю)

На 1-у, 3-ю, 6-у і 14-у доби розвитку АПМ відбувалося помітне зниження вмісту альфа1-ІП в нирках відповідно на 33,8% ($p<0,05$), 34,4% ($p<0,05$), 33,3% ($p<0,05$), 32,5% ($p<0,05$) відносно контролю (табл. 7.10; рис. 7.2), що вказувало на неспроможність інгібаторного потенціалу знешкоджувати високу активність показників протеолізу.

Таблиця 7.10 – Вміст альфа1-ІІІ в нирках у тварин при АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	Альфа1-ІІІ мкмоль
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$159,1 \pm 9,4$
Тварини з АПМ	1-а доба	9	$105,2 \pm 7,1$ $p < 0,05$
	3-я доба	9	$104,3 \pm 7,1$ $p < 0,05$
	6-а доба	9	$106,1 \pm 7,2$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$107,3 \pm 7,2$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні АПМ з результатами контрольної групи.			

Таким чином, як показують результати наших досліджень, що в динаміці розвитку АПМ відбувалася перманентна активація протеолітичних процесів на тлі зниження інгібаторного потенціалу, що свідчило про збій захисних механізмів організму, а саме зниження антипротеазного потенціалу. Цей дисбаланс між протеолізмом і антипротеазним потенціалом викликав патогенний вплив на нирки за умов розвитку АПМ. Це може викликати системні порушення гемодинаміки на рівні мікроциркуляції, порушення метаболізму в нирках, посилювати зростання цитокінів і процесів ліпопероксидації в даному органі або в організмі тварин в цілому.

7.3 Стан протеїназно-інгібаторної системи в нирках при поєднаному ЕП та АПМ

Третій підрозділ даного розділу є найважливішим, оскільки з'ясовуються особливості змін ППС в нирках за умов коморбідної патології, а саме ЕП і АПМ, що служить науковою новизною і підґрунтям для визначення патогенетичної терапії.

Встановлено, що в динаміці розвитку ЕП асоційованого з АПМ (1-а, 3-я, 6-а і 14-а доби) відбувається поступове зростання вмісту азоальбуміну в нирках відповідно на 69,8% ($p<0,05$), 74,3% ($p<0,05$), 82,4% ($p<0,05$), 87,8% ($p<0,05$) проти контрольної групи тварин (табл. 7.11; рис. 7.3).

Таблиця 7.11 – Вміст азоальбуміну в нирках у тварин при ЕП та АПМ ($M\pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	Азоальбумін мл-1 год-1
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$7,4 \pm 0,6$
Тварини з ЕП та АПМ (до лікування)	1-а доба	9	$12,5 \pm 1,0$ $p<0,05$
	3-я доба	9	$12,9 \pm 1,0$ $p<0,05$
	6-а доба	9	$13,5 \pm 1,0$ $p<0,05$
	14-а доба	9	$13,9 \pm 1,0$ $p<0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ЕП та АПМ з результатами контрольної групи			

Таблиця 7.12 – Вміст азоказеїну в нирках у тварин при ЕП та АПМ ($M\pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	Азоказеїн мл-1 год-1
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$7,3 \pm 0,6$
Тварини з ЕП та АПМ (до лікування)	1-а доба	9	$13,3 \pm 1,0$ $p<0,05$
	3-я доба	9	$13,8 \pm 1,0$ $p<0,05$
	6-а доба	9	$14,0 \pm 1,0$ $p<0,05$
	14-а доба	9	$14,2 \pm 1,0$ $p<0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ЕП та АПМ з результатами контрольної групи			

Одержані результати досліджень вказують на послідовне зростання протеолітичних процесів на усіх етапах нашого спостереження з домінуванням на 14-у добу коморбідної патології.

Визначення вмісту азоказеїну в нирках при АПМ і ЕП (1-а, 3-я, 6-а і 14-а доби) показало підвищення цього показника відповідно на 82,1% ($p<0,05$), 89,0% ($p<0,05$), 91,7% ($p<0,05$), 94,5% ($p<0,05$) відносно інтактної групи тварин (табл. 7.12; рис. 7.3).

Дослідження рівня азоколагену в нирках в динаміці формування коморбідної патології (1-а, 3-я, 6-а і 14-а доби) – ЕП і АПМ виявило його послідовне зростання, а саме відповідно на 100,0% ($p<0,05$), 105,2% ($p<0,05$), 110,5% ($p<0,05$), 115,7% ($p<0,05$) в порівнянні із першою групою тварин (табл. 7.13; рис. 7.3).

Таблиця 7.13 – Вміст азоколагену в нирках у тварин при ЕП та АПМ ($M\pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	Азоколаген мл-1 год-1
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$1,9 \pm 0,1$
Тварини з ЕП та АПМ (до лікування)	1-а доба	9	$3,8 \pm 0,2$ $p<0,05$
	3-я доба	9	$3,9 \pm 0,2$ $p<0,05$
	6-а доба	9	$4,0 \pm 0,2$ $p<0,05$
	14-а доба	9	$4,1 \pm 0,2$ $p<0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ЕП та АПМ з результатами контрольної групи			

Отже, проводячи аналіз одержаних біохімічних досліджень можна дійти до такого висновку, що коморбідна патологія – ЕП і АПМ на усіх етапах свого розвитку супроводжується послідовною активізацією протеолітичних процесів з піком на 14-у добу експерименту проти контролю.

Ці результати досліджень, зокрема стимуляція протеолізу спричиняла виснаження механізмів захисту (показників антипротеазної системи при ЕП і АПМ).

Визначення альфа2-М в нирках при даних коморбідних захворюваннях – ЕП і АПМ (1-а, 3-я, 6-а і 14-а доби) показало достовірне зниження даного показника відповідно на 36,4% ($p<0,05$), 44,7% ($p<0,05$), 45,8% ($p<0,05$) і 46,8% ($p<0,05$) в порівнянні з першою групою тварин (табл. 7.14; рис. 7.3), що свідчило про пригнічення антипротеазного потенціалу, яке спостерігалось на усіх етапах розвитку даних експериментальних моделей хворою з особливою перевагою на 6-у і 14-у доби експерименту.

Таблиця 7.14 – Вміст альфа2-М в нирках у тварин при ЕП та АПМ ($M\pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	альфа2-М г/л
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$9,6 \pm 0,7$
Тварини з ЕП та АПМ (до лікування)	1-а доба	9	$6,1 \pm 0,4$ $p<0,05$
	3-я доба	9	$5,3 \pm 0,4$ $p<0,05$
	6-а доба	9	$5,2 \pm 0,4$ $p<0,05$
	14-а доба	9	$5,1 \pm 0,4$ $p<0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ЕП та АПМ з результатами контрольної групи			

Встановлено, що в динаміці формування ЕП і АПМ (1-а, 3-я, 6-а і 14-а доби) відбувалося помітне зниження вмісту альфа1-ІІ в нирках на 41,9% ($p<0,05$), 43,3% ($p<0,05$), 46,4% ($p<0,05$), 47,2% ($p<0,05$) проти інтактної групи тварин (табл. 7.15; рис. 7.3).

Таблиця 7.15 – Вміст альфа1-ІП в нирках у тварин при ЕП та АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	альфа1-ІП мкмоль/л
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$159,1 \pm 9,4$
Тварини з ЕП та АПМ (до лікування)	1-а доба	9	$92,3 \pm 6,2$ $p < 0,05$
	3-я доба	9	$90,1 \pm 6,1$ $p < 0,05$
	6-а доба	9	$85,2 \pm 5,4$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$83,9 \pm 5,3$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні АПМ та ЕП з результатами контрольної групи			

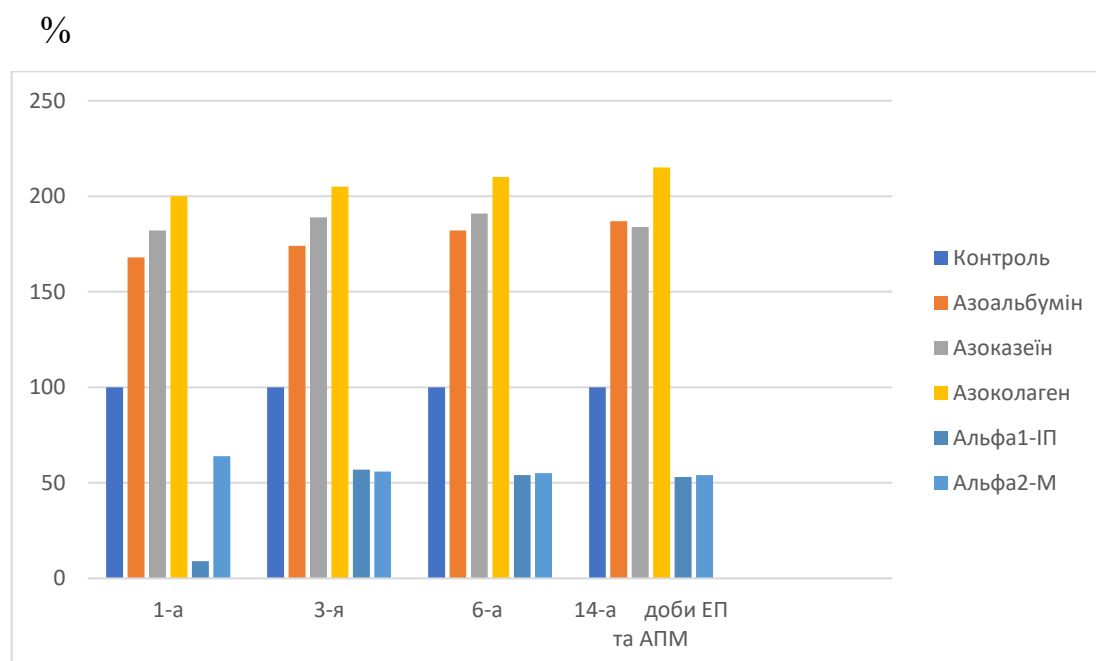


Рисунок 7.3 – Стан ППС в нирках при ЕП та АПМ (% від контролю)

Таким чином, проведені нами комплексні біохімічні дослідження, які стосувалися особливостей змін ППС показали на порушення балансу між протеолізмом, який зростає на тлі зниження показників антипротеазної системи.

Такий дисбаланс викликав включення інших механізмів пошкодження нирок (ліпідних) та служив основою для застосування корвітину з метою

поліпшення порушених метаболічних процесів при даних коморбідних захворюваннях.

7.4 Вплив препарату корвітину на порушені показники протеїназно-інгібіторної системи в нирках при ЕП та АПМ

Використання корвітину призводило до зниження вмісту азоальбуміну, азоказеїну та азоколагену в нирках відповідно на 37,4% ($p < 0,05$), 21,9% ($p < 0,05$), 34,1% ($p < 0,05$) при ЕП і АПМ на 14-у добу експерименту при порівнянні з групою морських свинок з даним коморбідним захворюванням, які не піддавалися впливові даного лікарського середника (табл. 7.16, 7.17, 7.18; рис. 4), що свідчило про його нефропротекторну та коригуючу дію на протеолітичні процеси. Даний препарат суттєво знижував показники протеолізу в нирках при ЕП асоційованого з АПМ.

Таблиця 7.16 – Вплив корвітину на вміст азоальбуміну в нирках у тварин при ЕП та АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Кількість тварин	Азоальбумін мл-1 год-1
Інтактні морські свинки. Контроль	10	$7,4 \pm 0,6$
ЕП та АПМ на 14-у добу експерименту (до лікування)	9	$13,9 \pm 1,0$ $p < 0,05$
ЕП та АПМ на 14-у добу експерименту (після лікування корвітином)	10	$8,7 \pm 0,6$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$
Примітки. p – достовірність різниці при порівнянні ЕП та АПМ з результатами у контрольній групі; p_1 – достовірність різниці при порівнянні показників до та після лікування корвітином (на 14-у добу ЕП та АПМ).		

Таблиця 7.17 – Вплив корвітину на вміст азоказеїну в нирках у тварин при ЕП та АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Кількість тварин	Азоказеїн мл-1 год-1
Інтактні морські свинки. Контроль	10	$7,3 \pm 0,6$
ЕП та АПМ на 14-у добу експерименту (до лікування)	9	$14,2 \pm 1,0$ $p < 0,05$
ЕП та АПМ на 14-у добу експерименту (після лікування корвітином)	10	$8,9 \pm 0,6$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$
Примітки. p – достовірність різниці при порівнянні ЕП та АПМ з результатами у контрольній групі; p_1 – достовірність різниці при порівнянні показників до та після лікування корвітином (на 14-у добу ЕП та АПМ).		

Таблиця 7.18 – Вплив корвітину на вміст азоколагену в нирках у тварин при ЕП та АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Кількість тварин	Азоколаген мл-1 год-1
Інтактні морські свинки. Контроль	10	$1,9 \pm 0,1$
ЕП та АПМ на 14-у добу експерименту (до лікування)	9	$4,1 \pm 0,2$ $p < 0,05$
ЕП та АПМ на 14-у добу експерименту (після лікування корвітином)	10	$2,7 \pm 0,1$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$
Примітки. p – достовірність різниці при порівнянні ЕП та АПМ з результатами у контрольній групі; p_1 – достовірність різниці при порівнянні показників до та після лікування корвітином (на 14-у добу ЕП та АПМ).		

Застосування корвітину також позитивно вплинуло на маркери інгібіторної системи – при ЕП і АПМ. А саме вміст альфа1 – ІІ і альфа2 – М підвищувалися в нирках відповідно на 24,5% ($p < 0,05$) і 72,5% ($p < 0,05$) при коморбідній патології (ЕП і АПМ) на 14-у добу експерименту відносно групи

тварин з даними експериментальними моделями хвороб, яким не було використано даний препарат (табл. 7.19, 7.20; рис. 4).

Таблиця 7.19 – Вплив корвітину на вміст альфа2-М в нирках у тварин при ЕП та АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Кількість тварин	Альфа2-М г/л
Інтактні морські свинки. Контроль	10	$9,6 \pm 0,7$
ЕП та АПМ на 14-у добу експерименту (до лікування)	9	$5,1 \pm 0,4$ $p < 0,05$
ЕП та АПМ на 14-у добу експерименту (після лікування корвітином)	10	$8,8 \pm 0,6$ $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$
Примітки. p – достовірність різниці при порівнянні ЕП та АПМ з результатами у контрольній групі; p_1 – достовірність різниці при порівнянні показників до та після лікування корвітином (на 14-у добу ЕП та АПМ).		

Таблиця 7.20 – Вплив корвітину на вміст альфа1-ІІ в нирках у тварин при ЕП та АПМ ($M \pm m$)

Форма досліджу	Кількість тварин	Альфа1-ІІ мкмоль/л
Інтактні морські свинки. Контроль	10	$159,1 \pm 9,4$
ЕП та АПМ на 14-у добу експерименту (до лікування)	9	$83,9 \pm 5,3$ $p < 0,05$
ЕП та АПМ на 14-у добу експерименту (після лікування корвітином)	10	$104,5 \pm 7,1$ $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$
Примітки. p – достовірність різниці при порівнянні ЕП та АПМ з результатами у контрольній групі; p_1 – достовірність різниці при порівнянні показників до та після лікування корвітином (на 14-у добу ЕП та АПМ).		

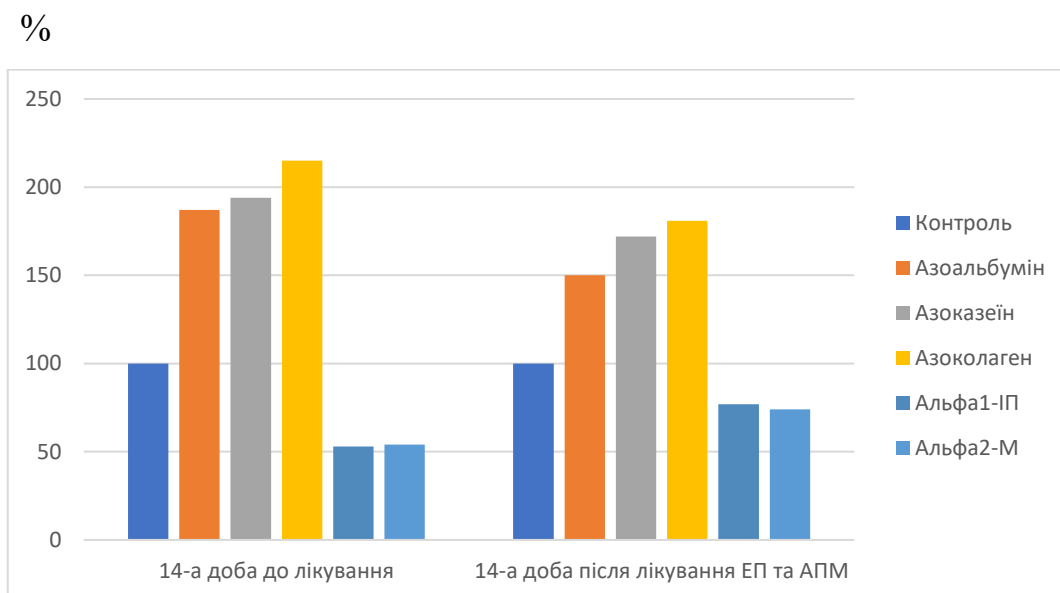


Рисунок 7.4 – Вплив корвітину на показники ППС в нирках на 14-у добу ЕП та АПМ (% порівняння до та після лікування)

Таким чином, аналізуючи отримані нами результати досліджень можна сказати про те, що застосування корвітину спричиняло нефропротекторну та коригуючу дію на дисбаланс показників ППС і вказувало на доцільність його використання в даному експерименті та в перспективі для проведення подальших, як експериментальних так і клінічних досліджень з метою підтвердження його позитивного впливу на порушені метаболічні процеси за умов розвитку ЕП і АПМ.

Отже, на основі одержаних біохімічних досліджень, що описані в даному розділі дисертаційної роботи можна зробити наступні проміжні висновки:

1. Експериментальна пневмонія на усіх етапах свого розвитку (1-а, 3-я, 6-а і 14-а доби) викликає стабільне зростання протеолітичних процесів з перевагою на 6-у добу експерименту, що відповідало стадії розпаду запалення з компенсаторним підвищенням показників антипротеазного потенціалу на 1-у добу експерименту з подальшим (3-я, 6-а, 14-а доби) їх суттєвим зниженням в нирках проти контролю.

2. АПМ спричиняє перманентне підвищення активності протеолізу на усіх етапах наших досліджень з домінуванням на 3-ю добу експерименту на тлі помітного зниження показників інгібаторного потенціалу в нирках відносно

інтактної групи тварин, що свідчило про розвиток дисбалансу між протеолізом і антипротеазною системою.

3. Коморбідна патологія (ЕП і АПМ) на усіх етапах розвитку супроводжується найбільш суттєвими зрушеннями показників ПІС, яке проявлялося послідовним зростанням протеолітичних процесів на тлі виснаження антипротеазного потенціалу в нирках з домінуванням в найпізніші терміни нашого дослідження (6-а, 14-а доби) проти першої групи тварин. Цей дисбаланс зумовлював пошкодження нирок при ЕП і АПМ.

4. Застосування корвітину призводило до зниження вмісту азоальбуміну, азоказеїну, азоколагену та підвищення рівня альфа1-ІІІ і альфа2-М в нирках на 14-у добу розвитку ЕП і АПМ в порівнянні з групою тварин, які не піддавалися впливові даного лікарського середника, що свідчило про його нефропротекторну та коригуючу дію на показники порушеної рівноваги ПІС та доцільність його використання.

Результати досліджень цього розділу дисертації відображено в науковій праці автора [169].

РОЗДІЛ 8

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Серцево-судинна патологія впродовж багатьох років займає провідне місце в структурі та смертності не лише в Україні, але й переважної більшості країн світу [8, 93, 94, 96, 116, 118].

Смертність в результаті серцево-судинних захворювань в Україні у 5-6 разів вища ніж у таких країнах, як США, Канада, Великобританія і Франція, серед яких найрозповсюдженішими захворюванням є ІХС (стенокардія, інфаркт міокарда) [21, 22, 90, 98].

Не менш поширеною патологією дихальної системи є пневмонія, яка розглядається, як гостре запальне поліетіологічне захворювання легень, що складає 35-45%, а летальність близько 50-70% за умов розвитку внутрішньохпітальної пневмонії [70, 77, 83].

На сьогодні гостро стоїть питання щодо коморбідної патології, яка поступово зростає в залежності від віку. Близько 70-90% коморбідна патологія спостерігається у віці старших за 60 років [2, 11, 12, 35, 53].

Наявність двох і більше супутніх захворювань (ко-і поліморбідності в терапії) суттєво знижують адаптаційні можливості, ускладнюють перебіг та діагностику і затруднюють лікування хворих [11, 12, 53].

Разом з тим коморбідна патологія спричиняє періоди непрацездатності, інвалідність та смертність, тому має соціально-економічне значення.

У даний час є не вивчені роль порушень процесів ліпопероксидації, протеолізу, антиоксидантного захисту, антипротеазного потенціалу, показників системи оксиду азоту, імунно-цитокінових реакцій в механізмах пошкодження нирок за умов коморбідної патології – ЕП і АПМ (в динаміці їх розвитку) до та після застосування корвітину.

Тому тема дисертаційної роботи щодо з'ясування механізмів пошкодження нирок за умов розвитку експериментальної пневмонії, що поєднана з адреналіновим пошкодженням міокарда є актуальною.

Було встановлено мету дослідження і відповідно до неї поставлено і виконано шість завдань дослідження, які детально описані у вступі дисертаційної роботи. Для цього нами були проведені численні експериментальні, імунологічні, імуноферментні, біохімічні і статистичні методи дослідження на морських свинках з моделюванням адреналінового пошкодження міокарда і пневмонії окремо та в їх поєднанні на 1-у, 3-ю, 6-у і 14-у доби експерименту до та після застосування корвітину.

У відповідності до мети і завдань дисертаційної роботи були проведені дослідження на 120 морських свинках (самцях), масою тіла 180-210 г., тварини утримувалися на стандартному раціоні віварію Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Усі тварини (морські свинки) розподіляли на чотирнадцять груп:

перша – інтактні тварини – контроль (10 морських свинок);

друга, третя, четверта і п'ята (дослідна) групи – склалися з 36 тварин (по 9 морських свинок у кожній) – тварини з адреналіновим пошкодженням міокарда (АПМ) відповідно на 1-у, 3-ю, 6-у і 14-у доби експерименту;

шоста, сьома, восьма і дев'ята (дослідна) групи – по 36 тварин – тварини з експериментальною пневмонією (ЕП) відповідно на 1-у, 3-ю, 6-у і 14-у доби експерименту;

десята, одинадцята, дванадцята, тринадцята (дослідна) групи - (36 тварин) морські свинки поєднані з ЕП і АПМ відповідно на 1-у, 3-ю, 6-у і 14-у доби експерименту (до лікування);

чотирнадцята група (10 тварин) – морські свинки з ЕП асоційовані АПМ після лікування корвітином, який вводили впродовж 9 днів з 6-ої по 14-у доби експерименту внутрішньоочеревинно дозі 40 мг/кг 1 раз на добу.

Усі дослідження та заплановані експерименти були проведені у відповідності до принципів біоетики з положенням Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин. Даних тварин яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986), Директиви Ради Європи 86/609/ЕЕС (1986), Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від

жорстокого поводження», загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (2001). Також це підтверджено заключенням членів комісії з біоетики ЛНМУ ім. Д. Галицького.

Дизайн досліджень складався з п'яти періодів: Перший період полягав у тому, що проводили забір крові, тканин нирок для здійснення імунологічних, імуноферментних і біохімічних досліджень в інтактних морських свинок самців (контрольна група) шляхом декапітації під впливом хлороформного наркозу.

Другий період експерименту включав моделювання ЕП і виведення морських свинок з експерименту враховуючи стадії гострої запальної відповіді на 1-у (інкубація), 3-ю добу (розвиток хвороби), 6-у добу (розпал хвороби) і 14-у доби (реконвалесценція), шляхом декапітації, під впливом хлороформного наркозу. Забирали кров, тканини нирок на 1-у, 3-ю, 6-у і 14-у доби експерименту для проведення біохімічних, імунологічних та імуноферментних досліджень.

Третій період експерименту полягав у тому, що у морських свинок моделювали АПМ і виводили тварин з експерименту беручи до уваги стадії його перебігу ішемії, некрозу, формуванню рубця в тканинах міокарда – на 1-у, 3-ю добу, 6-а доба і 14-а доба, шляхом декапітації під впливом хлороформного наркозу і забирали кров, тканини нирок для проведення імунологічних, імуноферментних і біохімічних досліджень.

Були обрані фіксовані доби для дослідження, які базувалися на тому, що через добу відзначається тенденція до зростання кількості некротизованих кардіоміоцитів, збільшується парез судин, наростає інтенсивність дифузної клітинної інфільтрації строми, зростає об'ємна щільність колагену (більше лівого шлуночка), знижується об'ємна щільність кардіоміоцитів. На 3-ю добу відмічається нейтрофільна інфільтрація строми, поява лейкоцитарного валу навколо некротизованих зон. Через 6-у діб виявляються ознаки репаративного процесу, через 14 діб – вогнищево-дифузної проліферації фібробластів.

Четвертий період експерименту характеризувався тим, що у морських свинок одночасно моделювали ЕП і АПМ (до фармакологічної корекції) і

виводили тварин з експерименту на 1-у, 3-ю, 6-у і 14-у доби шляхом декапітації під впливом хлороформного наркозу та забирали кров, тканини нирок для здійснення біохімічних, імунологічних, імуноферментних досліджень.

П'ятий період експерименту полягав у тому, що у морських свинок одночасно відтворювали ЕП і АПМ і проводили фармакокорекцію. Шляхом застосування корвітину у дозі 40 мг/кг маси в/о 1 раз на добу впродовж 9 діб з 6-ої по 14-у доби. Власне в цей період були найбільше виражені порушення метаболічних і імунних процесів.

Експериментальну пневмонію (ЕП) викликали шляхом інтраназального зараження тварин 0,5 мл матеріалом, що містив *Staphylococcus aureus*.

Гостре адреналінове пошкодження міокарда моделювали шляхом одноразового внутрішньом'язово введення 0,18% розчину адреналіну гідротартрату («Дарниця», Україна) з розрахунком 0,5 мг/кг.

Першим етапом нашого дослідження було вивчено особливості порушень показників клітинного і гуморального імунітету при коморбідній патології (ЕП і АПМ) до та після використання корвітину та встановлення участі їх в механізмах пошкодження нирок.

Відомо з літературних джерел, що імунна система, яка представлена головним чином гуморальною та клітинною ланками виконує цілий ряд захисних функцій в організмі. Зокрема, основною функцією гуморальної ланки імунітету є захист від позаклітинних збудників (бактерій), до яких може бути забезпечений вільний доступ антитіл. [2, 11, 26, 50, 54].

Головними функціями клітинних імунних реакцій є: протипухлинний захист від внутрішньоклітинних паразитів (вірусів, грибкових агентів, бактерій, протозойних мікроорганізмів); реалізація трансплантаційних реакцій (відторгнення пересаджених органів і тканин) [29, 94, 111].

Істотну роль для розвитку запальних процесів в організмі відіграють циркулюючі імунні комплекси (ЦІК), які постійно утворюються і є в здоровому організмі. Тому, утворення ІК є нормальним фізіологічним процесом, який спрямований на підтримку гомеостазу організму. В залежності від

співвідношення у плазмі антиген (АГ) і антитіло (АТ), ЦІК преципітуються та елімінуються з кровоплину фагоцитами і пошкоджуючої дії не мають. В умовах, якщо, утворення ІК виходить з-під контролю і має наростаючий характер, може виникати та чи інша імунокомплексна патологія. Вона здебільшого викликає патологічний процес у нирках, судинах, легенях або в суглобах [2, 11, 26, 74, 88].

Виходячи з вищенаведеного можна стверджувати, що імунна система причетна до будь-якого запального процесу в організмі та ішемії і некрозу, гіпоксії і одразу вона реагує змінами на екзогенні чи ендогенні антигени, що потрапляють в організм або в ньому утворюються [26, 29, 50, 87].

З метою виявлення особливостей порушень імунної системи при ЕП та АПМ окремо, а також при їх поєднанні були проведені імунологічні дослідження стосовно визначення вмісту Т і В-лімфоцитів і ЦІК в крові у динаміці (1-а, 3-я, 6-а, 14-і доби) розвитку даних коморбідних патологічних процесів до та після корекції корвітином.

Результати імунологічних досліджень показують на те, що на ранніх етапах розвитку експериментальної пневмонії зокрема 1-а і 3-я доби не спостерігалось достовірних змін щодо вмісту Т-лімфоцитів у крові. Цей показник знаходився на рівні контрольної групи тварин.

Пізніше на 6-у і 14-у доби розвитку ЕП відбувалося незначне зниження рівня Т-лімфоцитів у крові проти інтактної групи тварин (контроль).

Одержані нами результати досліджень дозволяють стверджувати про пригнічення клітинного імунітету на 6-у і 14-у доби формування ЕП. Дослідження іншого маркера імунної системи, який дає можливість виявити зміни її гуморальної ланки було визначення вмісту В-лімфоцитів в крові при ЕП. Встановлено, що, як на 1-у так і на 3-ю доби розвитку запального процесу в легенях рівень цього показника не зазнавав порушень. Він знаходився на рівні констант першої групи тварин.

Далі на 6-у і 14-у доби ЕП відбувалося зростання вмісту В-лімфоцитів у крові проти контролю, що свідчило про стимуляцію гуморальної ланки імунітету.

Визначення ЦІК у крові в динаміці розвитку ЕП показало, що в ранні періоди (1-а, 3-я доби) експерименту не було виявлено достовірних змін щодо зазначеного вище показника, а саме він знаходився на рівні контрольної групи тварин.

Водночас надалі, зокрема на 6-у і 14-у доби ЕП відбувалося помітне зростання рівня ЦІК в крові відносно контролю, що може вказувати на участь в патогенезі його імуннокомплексного механізму пошкодження клітин.

Таким чином, проведені нами імунологічні дослідження дають змогу робити висновок про те, що ЕП викликає порушення імунного гомеостазу, які проявлялися зниженням рівня Т-лімфоцитів та підвищенням вмісту В-лімфоцитів і ЦІК в крові в пізні періоди (6-а і 14-а доби) нашого спостереження. Ці результати свідчать про пригнічення клітинної ланки на тлі стимуляції гуморальної ланки імунітету.

Результати досліджень показали, що на усіх етапах формування (1-а, 3-я, 6-а, 14-а доби) АПМ спостерігалось стабільне зниження вмісту Т-лімфоцитів у крові в порівнянні з контролем, що свідчило про пригнічення клітинного імунітету та зниження його здатності захищати організм від внутрішньоклітинних мікроорганізмів.

Докорінно інших напрямів змін зазнав рівень В-лімфоцитів, як у ранній (1-а, 3-я доби) так і в пізній періоди (6-а, 14-а доби) розвитку АПМ, а саме вміст цього показника суттєво зростав в крові проти першої групи тварин.

Важливим показником для оцінки стану гуморального імунітету має визначення ЦІК у крові в динаміці формування АПМ. Виявлено, що на 1-у і 3-ю доби експерименту спостерігалось підвищення вмісту ЦІК в крові, а далі на 6-у і 14-у доби АПМ продовжував зростати цей показник, але дещо в меншій мірі вираження, в порівнянні з контрольною групою тварин.

Одержані нами результати дослідження щодо маркерів імунної системи, а саме рівня Т і В-лімфоцитів та ЦІК показало, що на усіх етапах формування АПМ відбувалося перманентне підвищення вмісту В-лімфоцитів і ЦІК та зниження вмісту Т-лімфоцитів у крові, які були найбільше виражені на 3-ю добу

експерименту проти групи тварин, що свідчило про помітні порушення імунітету та їх активну участь в патогенезі розвитку цієї експериментальної моделі хвороби.

Отже, зазначені вищі зміни показників імунної системи при АПМ вказують на доцільністю їх визначення. На підставі цих порушень можна характеризувати стан, як гуморальної так і клітинної ланок імунітету та служити основою для призначення патогенетичної корекції.

Цілий ряд науковців стверджують, що різні види мікроорганізмів, в тому числі стафілокок можуть служити алергенами інфекційного походження. Тому за умов повторного контакту організму з антигеном утворюються ЦІК. Розміри, концентрація і час присутності у кров'яному руслі ЦІК мають дуже велике значення. Найбільший патогенний вплив на структурні властивості ЦІК має концентрація взаємодіючих АГ і АТ [26, 29]. Рівень ЦІК залежить від швидкості їх утворення, кількості АТ, інтенсивності синтезу АТ, хімічних і фізичних властивостей АГ і АТ, а також швидкості елімінації з організму. Якщо переважає концентрації АГ над концентрацією АТ, утворюються малі ЦІК, які повільно виводяться і тривало персистують у циркуляції. Такі ІК не здатні активувати систему комплементу та без перешкод елімінуються із організму через нирки. Якщо зростає надлишок АТ і наближення його до рівня рівноваги з концентрацією АГ продукує утворення ІК середніх розмірів, які мають високу комплементзв'язуючу здатність, вони погано фагоцитуються і незадовільно виводяться з організму [26, 29]. Власне це зумовлює їх патогенний вплив. Якщо оптимальне співвідношення концентрацій АГ і АТ тоді це ініціює утворення великих ЦІК. Вони упродовж години фагоцитуються і виявляють незначну патогенність [2, 11, 26, 29, 50].

Важливим завданням нашого дослідження було з'ясувати патофізіологічні особливості змін показників імунної системи при коморбідній патології (ЕП і АПМ) на різних етапах її перебігу та виявити їх участь в механізмах пошкодження нирок. Нами встановлено, послідовне зниження вмісту Т-

лімфоцитів у крові відповідно на 1-у, 3-ю, 6-у і 14-у доби формування ЕП в поєднанні з АПМ проти контролю.

Отримані нами результати досліджень вказують на помітне зниження клітинного імунітету, яке спостерігалось впродовж усіх періодів розвитку даних коморбідних станів з особливою перевагою на 14-у добу експерименту.

Визначення вмісту В-лімфоцитів у крові тварин в процесі розвитку ЕП і АПМ (1-а, 3-я, 6-а, 14-а доби) показало поступове зростання його рівня в порівнянні з інтактною групою тварин, що свідчило про активізацію гуморального імунітету з домінуванням у найпізніші терміни (6-а і 14-а доби) нашого спостереження.

Важливе значення для характеристики гуморального імунітету та визначення участі III типу алергічних реакцій при даних коморбідних патологіях має дослідження загальних ЦІК в крові.

Маніфестація ЕП і АПМ (1-а, 3-я, 6-а і 14-а доби) призводить до стабільного зростання рівня ЦІК у крові проти першої груп тварин, що вказувало на патогенний вплив їх. Ці результати дають можливість висловити думку про те, що перманентне підвищення ЦІК з особливим домінуванням на 6-у і 14-у доби експерименту, що відповідало стадіям розпалу і рековаленсценсії при ЕП та стадіям репаративного процесу і вогнищево-дифузної проліферації фібробластів. Тривала циркуляція збільшеної кількості ЦІК та потрапляння їх в нирки, викликає патогенний вплив на цей орган за умов розвитку ЕП і АПМ.

Таким чином, проведені нами імунологічні дослідження щодо визначення Т, В-лімфоцитів, ЦІК показало послідовне підвищення показників гуморального зокрема В-лімфоцитів і ЦІК на усіх періодах експерименту в умовах помітного зниження клітинного імунітету, які були найбільше виражені на 14-у добу даних поєднаних ЕП і АПМ, які впливали на пошкодження нирок.

Це зумовлювало використання патогенетично обґрунтованого імунокоригуючого лікарського засобу, а саме корвітину. Застосування даного лікарського препарату призводило до підвищення вмісту Т-лімфоцитів та зниження рівня ЦІК, В-лімфоцитів у крові при ЕП і АПМ на 14-у добу

експерименту в порівнянні з групою тварин з даною коморбідною патологією, які не піддавалися впливу корвітину.

Таким чином, проведений нами аналіз порушень імунних показників свідчив про необхідність і важливість їх досліджень та служив одним з суттєвих критеріїв для характеристики стану імунологічної реактивності організму, а також вказував на участь імунних механізмів пошкодження нирок, на доцільність призначення імунокоригуючої патогенетичної терапії.

Доведено, що цитокінам, як універсальним біорегуляторам міжклітинних взаємодій при імунній відповіді, належить основна функція у реалізації імунозапальної реакції в організмі. У цьому контексті посилений синтез прозапальних чи дисбаланс опозиційних пулів цитокінів відіграє помітну роль у механізмах різних захворювань у зв'язку із надмірною міграцією до осередку запалення ефektorних клітин. Це посилює патоімунний процес і спричиняє до цитокінопосередкованого ураження тканинних структур органів. А саме тому цитокінетичний профіль сироватки крові має важливе значення для оцінки ступеня активності запального процесу [21, 26, 29, 72, 93, 100].

Виходячи з вищевикладеного, дослідження особливостей змін цитокінетичного профілю в крові при експериментальній пневмонії та АПМ відіграє помітну роль не лише для патогенезу, але й для діагностики і обґрунтування методів їх патогенетичної терапії.

Тому другим етапом нашого дослідження було вивчено особливості змін деяких маркерів класу цитокінів, як прозапальної групи – ФНП- α , ІЛ-6, так і протизапальної – ІЛ-10, в різні періоди формування ЕП та АПМ (1-а, 3-я, 6-а і 14-а доби) ізольовано так і в їх асоціації до та після застосування препарату корвітину та їх участь в механізмах пошкодження нирок.

Маніфестація ЕП (1-а, 3-я, 6-а і 14-а доби) зумовлює послідовне однонаправлене підвищення вмісту ФНП- α і ІЛ-6 в крові проти контрольної групи тварин, що свідчило про стимуляцію запального процесу в легенях.

Високий рівень прозапальних цитокінів суттєво вплинув на вміст протизапального інтерлейкіну. А саме рівень ІЛ-10 в крові на 1-у добу ЕП зростав

проти контролю. А згодом починаючи з 3-ої доби ЕП і далі (6-а, 14-а доби) спостерігалися протилежні зміни даного цитокіну, який зазнавав помітного зниження в крові в порівнянні з першою групою тварин.

Отже, виявлений дисбаланс цитокінового статусу дозволяє зробити висновок про те, що ЕП зумовлює зрив адаптаційних механізмів і може призводити до прогресування запального процесу в легенях за рахунок цитокіно-опосередкованого впливу їх та посилення дії на інші механізми, зокрема імунні, оксидантного стресу, протеолізу і порушень системи оксиду азоту та їх вплив на пошкодження нирок.

Результати досліджень показали, що у перші доби, зокрема на 1-у і 3-ю доби АПМ спостерігалось найбільше підвищення вмісту ФНП- α і IL-6 в крові. Пізніше на 6-у і 14-у доби АПМ було встановлено зростання цих цитокінів, проте, дещо в меншій мірі, вираження відносно інтактної групи тварин, що свідчило, очевидно не лише про формування некрозу міокарда, але її розвитку перифокального запалення.

Одержані результати досліджень протизапального цитокіну, зокрема IL-10 в крові на всіх періодах (1-а, 3-я, 6-а і 14-а доби) розвитку АПМ відбувалися протилежні зміни. А саме вміст IL-10 крові був стабільно зниженим відносно групи інтактних тварин.

Отже, підсумовуючи отримані нами результати імуноферментного дослідження дають можливість стверджувати, що АПМ супроводжується дисбалансом цитокіногенезу, яке було виражене на усіх періодах його дослідження з перевагою на 3-ю добу експерименту.

Важливе значення має виявлення змін маркерів про і протизапальних цитокінів у крові на 1-у, 3-ю, 6-у і 14-у доби розвитку коморбідної патології (ЕП і АПМ) та з'ясування ролі їх порушень в механізмах пошкодження нирок.

А саме коморбідна патологія (ЕП і АПМ) зумовлювала поетапне зростання вмісту ФНП- α і IL-6 в крові відповідно на 1-у, 3-ю, 6-у і 14-у доби даних експериментальних моделей хвороб проти контролю, що вказувало на

активізацію запального процесу в легенях і прогресування АПМ, яке було найбільше виражене на 6-й і 14-у доби експерименту.

Не менш важливе значення для характеристики стану цитокіногенезу має визначення протизапального цитокіну ІЛ-10 в крові.

Як показують результати наших досліджень, що коморбідна патологія – ЕП і АПМ (1а, 3-я, 6-а і 14-а доби) супроводжується суттєвим зниженням вмісту ІЛ-10 в крові відносно контрольної групи тварин.

Таким чином, проводячи аналіз результатів імуноферментного дослідження показників цитокіногенезу можна дійти до такого висновку, що ЕП поєднана з АПМ спричиняє помітні порушення цитокінового статусу, які проявляються зростанням вмісту прозапальних на тлі значимого зниження протизапального цитокіну і мають не лише важливе значення для патогенезу розвитку цих експериментальних моделей хвороб, але й впливають, (як описано надалі в інших розділах дисертаційної роботи) на порушення інших молекулярних механізмів пошкодження нирок, що стосується змін процесів ліпопероксидації, протеолізу, високого рівня стабільних метаболітів оксиду азоту та зниження антиоксидантного захисту і інгібіторного потенціалу в нирках.

Також вивчали коригуючий вплив препарату корвітину на дисбаланс показників про- та протизапальних цитокінів у крові на 14-у добу формування експериментальної пневмонії поєднаної з адреналіновим пошкодженням міокарда.

Одержані нами результати досліджень стосовно дисбалансу, що розвинувся при ЕП поєднаний з АПМ відіграють важливу роль не лише, як механізми пошкодження тканин, але і, як важливі маркери, за якими можна оцінювати активність запального процесу в організмі, служать критеріями для діагностики цих патологічних процесів, а також є основою для визначення і розробки патогенетичної терапії з метою корекції даних патологій.

Для цього було застосовано протизапальний, кардіопротекторний, імунокоригуючий і антиоксидантний препарат, такий, як корвітин за умов формування цієї коморбідної патології.

Застосування корвітину у дозі 40 мг/кг маси внутрішньочеревинно 1 раз на добу впродовж 9 діб (з 6-ої по 14-у доби) призводив до зниження вмісту ФНП- α і IL-6 в крові та підвищення рівня IL-10 на 14-у добу при АПМ і ЕП в порівнянні з групою тварин до лікування, що свідчило про його цитокінокоригуючий вплив.

Таким чином, як показують результати наших досліджень, що корвітин виявляв протизапальну, кардіопротекторну і цитокінокоригуючу дію за умов розвитку ЕП асоційованої з АПМ і має перспективу, щодо подальшого його дослідження та ймовірного застосування в пульмонології, кардіології, терапії, як препарату, що коригує цитокіновий дисбаланс, порушені метаболічні процеси.

Наступним етапом нашого дослідження було висвітлено питання, які стосувалися вивчення стану прооксидантної і антиоксидантної систем у нирках в динаміці розвитку експериментальної пневмонії та адреналінового пошкодження міокарда в морських свинок та корекція їх порушень корвітином та встановлення їх ролі в механізмах пошкодження нирок.

Характеризували прооксидантну систему за вмістом ДК і МДА, а АОС за активністю СОД, КТ в нирках в динаміці розвитку ЕП і АПМ.

У цьому контексті численні дослідження свідчать про те, що за фізіологічних умов в організмі є баланс між утворенням вільних радикалів та їх нейтралізацією антиоксидантною системою [1, 3, 4, 33, 42].

Загальновизнаним є той факт, що при запальному процесі утворюються активні метаболіти кисню, які є прооксидантами, що зумовлюють активацію перекисного окиснення ліпідів, яке є одним з важливих механізмів регуляції стану мембран клітин [6, 7, 12, 22, 40, 48].

Патогенний вплив АФК на нирки проявляється тим, що продукти такого окиснення мають властивість безпосередньо збільшувати іонну проникність фосфоліпідного шару клітин. Це зумовлює порушення фосфоліпідного покриття їх мембран та модифікації білкових структур. Тому мітохондрії суттєво втрачають здатність до синтезу АТФ та клітини знаходяться в умовах енергетичного голоду, а згодом механізми загибелі органел, порушення процесів

обміну в ендоплазматичному ретикулумі, розрив ланцюгів ДНК та виникають мутації [1, 3, 4, 7, 23, 34, 51, 55, 106].

У цьому зв'язку вивчення ролі ПОЛ і АОС при ЕП і АПМ має важливе значення щодо з'ясування їх патогенного впливу на нирки.

Ряд досліджень вказують на те, що інтенсивність вільнорадикального окиснення є адекватним відображенням запальних процесів. Підвищення кількості продуктів ПОЛ, здатні викликати окиснення різноманітних біосубстратів. Власне цим пошкоджують білки та ліпіди біомембран, інактивують ферменти, змінюють структури макромолекул, цілісність клітин та внутрішньоклітинних органел [4, 6, 22]. Активізація ПОЛ сприяє підвищенню проникності мембран. Останнє спричиняє зростання вмісту БАР, які посилюють та підтримують запальний процес в організмі.

Тому вивчення процесів ліпопероксидації і АОС в нирках при ЕП (1-а, 3-я, 6-а і 14-у доби) за вмістом ДК і МДА, та за активністю ферментів СОД, КТ має важливе значення.

Результати біохімічних досліджень показали, що на початкових етапах формування ЕП (1-а доба) вміст ДК і МДА в нирках не змінювався, знаходився на рівні контролю.

Далі на 3-ю, 6-у і 14-у доби розвитку ЕП відбувалося помітне послідовне зростання вмісту ДК і МДА в нирках проти першої групи тварин. Встановлено, що активізація процесів вільнорадикального окиснення викликала суттєві порушення щодо активності ферментів антиоксидантної системи при ЕП.

Проте спочатку активність СОД і КТ нирках на 1-у добу розвитку ЕП не змінювалась. Даний ензим був на рівні контролю.

Пізніше, а саме на 3-ю добу формування ЕП активність СОД і КТ в нирках зростала проти контрольної групи тварин, що свідчило про компенсаторну реакцію збоку даних ферментів на надмірне утворення продуктів.

У пізній етап (6-а, 14-а доби) формування ЕП відбувалося суттєве зниження активності СОД і КТ в нирках в порівнянні з інтактною групою тварин.

Таким чином, одержані нами результати біохімічних досліджень показали, що на ранніх етапах (1-а і 3-я доби) ЕП, активність даних ферментів не змінювалася, або незначно зростала, що вказувало на компенсаторне їх зростання, а далі на 6-у і 14-у доби експерименту спостерігалось їх помітне зниження, що свідчило про неспроможність ферментативної ланки антиоксидантної системи утилізувати надмірно утворені продукти ПОЛ.

Отже, проводячи аналіз біохімічних досліджень можна стверджувати, що пізній період, що охоплював 6-у і 14-у доби розвитку ЕП супроводжувався суттєвим порушенням балансу між прооксидантною системою, яка поступово активізувалась (зростанням вмісту ДК і МДА) та антиоксидантною системою, яка була пригніченою (зниженням в нирках активності СОД і КТ), що свідчило про розвиток оксидантного стресу, який мав патогенний вплив на нирки за умов формування ЕП.

Результати біохімічних досліджень виявили стабільне зростання при АПМ (1-а, 3-я, 6-а, 14-а доби) вмісту ДК і МДА в нирках проти контрольної групи тварин, що свідчило про стимуляцію процесів перекисного окиснення ліпідів та їх патогенний вплив на нирки і ферментативну систему антиоксидантного захисту.

Зокрема на 1-у добу АПМ відбувалося компенсаторне зростання активності СОД і КТ в нирках, а далі на 3-ю, 6-у і 14-у доби експерименту спостерігалось пригнічення АОС а саме зниження активності даних ферментів в порівнянні з контрольною групою тварин.

Одержані нами результати досліджень дозволяють зробити висновок про те, що починаючи з третьої і до 14-ої доби АПМ виникає дисбаланс, що проявляється стабільним зростанням процесів ліпопероксидації на тлі помітного виснаження ферментативної ланки антиоксидантної системи, яка не спроможна видаляти надмірно утворені токсичні продукти ПОЛ, що патогенно впливають на нирки за умов цієї експериментальної моделі хвороби.

Властиво цей дисбаланс прооксидантної і антиоксидантної системи посилює перебіг АПМ та залучає один з молекулярних механізмів пошкодження нирок, що охоплює процеси ліпопероксидації і антиоксидантного захисту.

Результати біохімічних досліджень вмісту ДК і МДА в нирках при коморбідності - ЕП і АПМ в динаміці (1-а, 3-я, 6-а і 14-а доби) їх розвитку показало однонаправлені зміни зазначених показників, які поступово зростали проти контрольної групи тварин.

Отже, проводячи аналіз отриманих результатів дослідження, як первинних так і кінцевих продуктів ПОЛ можна стверджувати, що ЕП асоційована з АПМ на усіх етапах їх формування супроводжується поетапним підвищенням процесів ліпопероксидації з найвищим ступенем вираження на 6-у і 14-у доби експерименту, що суттєво змінило реагування ферментативної ланки антиоксидантного захисту.

А саме активність СОД і КТ починали знижуватися в нирках з початкових етапів (1-а, 3-я доби) даної коморбідної патології і надалі (6-а і 14-а доби) відносно першої групи тварин, що вказувало на виснаження АОС.

Таким чином, проведені нами біохімічні дослідження показників ПОЛ і АОС в нирках в динаміці розвитку поєднаної патології – ЕП і АПМ дають підставу вважати, що дані експериментальні моделі хвороб проявляються формуванням оксидантного стресу. Було встановлено суттєве зниження активності ключових ферментів (СОД і КТ) на тлі помітного підвищення рівня процесів ліпопероксидації, що є одним з важливих молекулярних (патогенних) механізмів пошкодження нирок, який мав місце на усіх періодах маніфестації цієї коморбідної патології з особливою перевагою на 14-у добу експерименту. Одержані зміни стали основою для доцільності призначення патогенетичної терапії.

Використання корвітину при ЕП та АПМ призводило до зниження вмісту ДК та МДА та підвищення активності СОД і КТ в нирках відносно групи тварин з даними поєднаними моделями хвороб на 14-у добу експерименту, що не

піддавалися впливу даного препарату ,що свідчило про його антиоксидантну дію.

Одержані нами результати біохімічних досліджень дають підставу констатувати про те, що завдяки протизапальному, кардіопротекторному та антиоксидантному, нефропротекторному впливові корвітину зменшувався патогенний вплив одного з визначальних молекулярних (ліпідних) механізмів пошкодження нирок, а також про доцільність його подальшого використання за умов формування ЕП і АПМ в клініці внутрішніх хвороб – пульмонології, кардіології, нефрології, як одного з препаратів патогенетичної терапії з метою поліпшення суттєво порушених метаболічних процесів в нирках при даних коморбідних патологіях.

Важливим наступним етапом нашого дослідження було вивчення ролі порушень системи оксиду азоту в патогенезі пошкодження нирок за умов розвитку експериментальної пневмонії асоційованої з адреналіновим пошкодженням міокарда та корекція їх корвітином.

Як свідчать літературні джерела, що будь-який патологічний процес прямо чи опосередковано пов'язаний із поліфункціональними властивостями оксиду азоту (NO). Тому, що ця молекула є добрим біомаркером щодо можливостей об'єктивної оцінки не лише за умов формування фізіологічних, але й за патологічних процесів живого організму, а також для визначення фармакологічного ефекту при хворобах взагалі [9, 15, 17, 25].

Відомо, що функціонуючи як фізіологічний чи патофізіологічний посередник, NO продукується групою ізоферментів NO-синтаз – сумарних NOS та iNOS, кожна з яких має свої особливості як за механізмом дії, так і за біологічним значенням. Також встановлено, що рівень стабільних метаболітів оксиду азоту залежить від ступеня активності патологічного процесу, тому за рівнем у крові цих метаболітів можна визначати розвиток захворювання і контролювати ефективність фармакокорекції [9, 17, 36, 65, 91, 101].

Виходячи з вищевикладеного у дисертаційній роботі нами вивчалися питання щодо особливостей порушення вмісту показників оксиду азоту –

стабільних метаболітів (нітрат і нітрит йонів) NO, сумарних (NOS) і L-аргініну у сироватці крові морських свинок в різні доби формування АПМ та ЕП до та після їх корекції корвітином.

Результати біохімічних досліджень показали, що в динаміці (1-а, 3-я, 6-а, 14-а доба) формування ЕП відбувається послідовне підвищення вмісту стабільних метаболітів NO та сумарної активності NOS в нирках відносно контрольної групи тварин.

Дослідження вмісту L-аргініну в нирках на 1-у добу ЕП показало, що цей показник не змінювався, знаходився на рівні інтактної групи тварин. Пізніше на 3-ю, 6-у і 14-у доби формування ЕП спостерігалось поступове зниження вмісту L-аргініну в нирках проти контролю. Ці результати можуть вказувати на надмірні витрати L-аргініну, що відбуваються за рахунок підвищених потреб його для синтезу NO, який постійно зростає в динаміці розвитку запального процесу в легенях.

Таким чином, аналізуючи одержані результати біохімічних досліджень щодо змін маркерів системи оксиду азоту дозволяють стверджувати, що ЕП супроводжується поступовим зростанням стабільних метаболітів NO, сумарної активності NOS на тлі зниження рівня L-аргініну в нирках з найбільшим ступенем їх вираження на 6- і 14-у доби експерименту в порівнянні з контрольною групою тварин. Ці дані засвідчують про вплив запального процесу гіпоксії, метаболічних порушень на нирки в умовах експериментальної пневмонії.

За умов розвитку (1-а, 3-я, 6-а і 14-а доби) АПМ відбувалося підвищення вмісту стабільних метаболітів NO і сумарної активності NOS в нирках в порівнянні з контролем.

Протилежних змін по відношенню до попередніх описаних показників зазнавав рівень L-аргініну в нирках, який був стабільно зниженим на усіх періодах розвитку АПМ. Зокрема вміст L-аргініну знижувався при АПМ відповідно на 1-у, 3-ю, 6-у і 14-у доби експерименту проти контрольної групи тварин.

Особливе значення для характеристики механізмів пошкодження нирок та визначення шляхів патогенетичної фармакологічної корекції стосовно порушень показників системи NO, а саме зростання рівня стабільних метаболітів NO і сумарної активності NOS має вплив на нирки наявності коморбідної патології – ЕП і АПМ, при яких є виражена дія запального процесу, гіпоксії і некрозу серцевого м'язу.

Маніфестація (1-а, 3-я, 6-у, 14-у доби) АПМ поєднаного з ЕП супроводжувалося помітним зниженням вмісту L-аргініну в нирках проти контрольної групи тварин.

З метою корекції порушених метаболічних процесів, які стосувалися змін показників системи NO в нирках при коморбідній патології (ЕП і АПМ) був застосований препарат корвітин, який має протизапальні, антигіпоксичні, антиоксидантні, гапото і рено-, кардіопротекторні властивості. Показано, що корвітин призводив до зниження вмісту стабільних метаболітів NO і сумарної активності NOS та підвищення рівня L-аргініну в нирках при ЕП і АПМ на 14-у добу експерименту відносно груп тварин з даними моделями хвороб, які не піддавалися впливу цього лікарського середника.

Ряд літературних джерел вказують на те, що, незалежно від етіології первинного ураження, нирки зазнають різноманітних модифікацій – біохімічних, гемодинамічних, молекулярно-клітинних [9, 15, 36]. Сукупність цих змін, підсилена дією активних форм кисню. Це призводить до порушень у рівновазі протеїназно-інгібіторної системи, як однієї з визначальних систем, що контролює гомеостаз. Дисбаланс у цій системі характеризується переважанням процесів катаболізму протеїнів, які виконують структурні (компоненти клітинних мембран) та транспортні (взаємодія з різноманітними сполуками і їх перенесення) функції [9, 15, 36, 52, 68, 83]. Цей метаболічний дисонанс не лише сприяє посиленню симптоматики ЕП та АПМ з подальшим ушкодженням тканинних структур, але може бути універсальним показником інтоксикації при розгортанні патологічного процесу в даному органі.

У цьому зв'язку вивчення особливостей порушень процесів протеолізу і антипротеазного потенціалу в нирках в динаміці розвитку ЕП і АПМ до та після застосування корвітину має важливе значення для з'ясування механізмів пошкодження нирок при даних коморбідних патологіях.

З метою з'ясування особливостей змін протеїназно-інгібіторної системи в динаміці розвитку ЕП досліджували вміст азоальбуміну, азоказеїну, азоколагену та альфа1-ІІІ, альфа2-М в нирках.

Встановлено, що в динаміці (1-а, 3-я, 6-а, 14-а доби) формування ЕП спостерігалось поступове зростання місту азоальбуміну, азоказеїну і азоколагену в нирках проти контрольної групи тварин.

Таким чином, проведені нами біохімічні дослідження показали, що рівень азоальбуміну, азоказеїну і азоколагену поступово зростає, що свідчило про прогресивне підвищення протеолітичних процесів за умов розвитку ЕП, яке особливо домінувало на 6-у і 14-у доби експерименту.

Така виражена стабільна активізація протеолізу викликала неоднонаправлені зміни показників антипротеазного потенціалу в нирках при ЕП.

Дослідження вмісту альфа1-ІІІ і альфа2-М в нирках на 1-у добу розвитку ЕП показало помітне його зростання в порівнянні із інтактною групою тварин. Далі на 3-ю, 6-у і 14-у доби ЕП спостерігалось достовірне зниження їх вмісту в нирках відносно контролю, що свідчило про пригнічення антипротеазного потенціалу.

Аналізуючи весь комплекс біохімічних досліджень можна стверджувати, що розвиток дисбалансу між протеїнажною і антипротеазною системою, а саме процеси протеолізу, які поступово зростали на тлі зниження показників інгібіторного потенціалу, були найбільше виражені на 6-у і 14-у доби формування ЕП. Водночас на початку 1-ї доби експерименту спостерігалось компенсаторна реакція збоку антипротеазного потенціалу, який зростає, а пізніше зазнавав суттєвих знижень.

З'ясовували особливості змін ПІС в нирках в динаміці розвитку АПМ. Було встановлено, що вміст азоальбуміну, азоколагену, азоказеїну постійно зростав при АПМ (1-а, 3-я, 6-а і 14-а доби) проти контрольної групи тварин, що свідчило про стимуляцію протеолітичних процесів.

Визначення одних з показників інгібіторного потенціалу були альфа2-М і альфа1-ІІІ. Було виявлено, що в динаміці формування АПМ (1-а, 3-я, 6-а і 14-а доби) спостерігалось зниження їх рівнів відповідно в нирках проти інтактної групи тварин, що свідчило про зниження активності антипротеазного потенціалу, що вказувало на неспроможність інгібіторного потенціалу знешкоджувати високу активність показників протеолізу.

Таким чином, як показують результати наших досліджень, що в динаміці розвитку АПМ відбувалася перманентна активація протеолітичних процесів на тлі зниження інгібіторного потенціалу, що свідчило про збій захисних механізмів організму, а саме зниження антипротеазного потенціалу. Цей дисбаланс між протеолізмом і антипротеазним потенціалом викликав патогенний вплив на нирки за умов розвитку АПМ. Це може викликати системні порушення гемодинаміки на рівні мікроциркуляції, порушення метаболізму в нирках, посилювати зростання цитокінів і процесів ліпопероксидації в даному органі або в організмі тварин в цілому.

З'ясування особливостей змін ПІС в нирках за умов коморбідної патології, а саме ЕП і АПМ, служило науковою новизною і підґрунтям для визначення патогенетичної терапії.

Встановлено, що в динаміці розвитку ЕП асоційованого з АПМ (1-а, 3-я, 6-а і 14-а доби) відбувається поступове зростання вмісту азоальбуміну, азоколагену і азоказеїну в нирках проти контрольної групи тварин, що вказувало на посилення протеолітичних процесів.

ЕП і АПМ на усіх етапах свого розвитку супроводжується послідовною активізацією протеолітичних процесів з піком на 14-у добу експерименту та зниження рівня альфа1-ІІІ і альфа2-М проти контролю, що свідчило про порушення рівноваги між протеолізмом і антипротеазним потенціалом.

Такий дисбаланс служив основою для застосування корвітину з метою поліпшення порушених метаболічних процесів при даних коморбідних захворюваннях.

Використання корвітину призводило до зниження вмісту азоальбуміну, азоказеїну та азоколагену та підвищенням рівня альфа1-ІІ і альфа2-М в нирках при ЕП і АПМ на 14-у добу експерименту при порівнянні з групою морських свинок з даним коморбідним захворюванням, які не піддавалися впливові даного лікарського середника, що свідчило про його коригуючу дію на протеолітичні процеси та інгібітори протеаз.

Аналізуючи отримані нами результати досліджень можна сказати про те, що застосування корвітину спричиняло коригуючу дію на дисбаланс показників ПІС і вказувало на доцільність його використання в даному експерименті та в перспективі для проведення подальших, як експериментальних так і клінічних досліджень з метою підтвердження його нефропротекторного впливу на порушені метаболічні процеси за умов розвитку ЕП і АПМ.

Таким чином, проведені нами комплексні біохімічні, імунологічні та імуноферментні дослідження показників протеолізу, ліпопероксидації, інгібіторного потенціалу, антиоксидантного захисту, імунної системи, цитокінового статусу, системи оксиду азоту показало поступове, виражене зростання перекисного окиснення ліпідів, протеолітичних процесів, стимуляцію гуморального імунітету та рівня прозапальних цитокінів на тлі суттєвого пригнічення клітинної ланки імунітету, антипротеазного потенціалу, антиоксидантної системи, протизапального цитокіну і вмісту L-аргініну в нирках та крові за умов розвитку коморбідної патології – ЕП і АПМ, які були найбільше виражені на 6-у і 14-у доби експерименту по відношенню до контрольної групи тварин.

Одержані нами результати досліджень вказують на розвиток оксидантного стресу, дисбалансу протеїназно-інгібіторної системи, порушення показників системи оксиду азоту, цитокіногенезу, імунного гомеостазу, які відіграють важливу роль в механізмах пошкодження нирок при ЕП і АПМ.

Застосування корвітину призводило до нефропротекторного впливу на порушені метаболічні і імунні процеси за умов формування запального процесу в легенях і мікардіодистрофії.

Підсумовуючи одержаний фактичний матеріал дисертаційної роботи дозволяє зробити висновок про те, що встановлені порушені процеси метаболізму і імунної системи мають важливе значення для ширшого та глибшого розуміння окремих механізмів пошкодження нирок, удосконалення діагностики та служать суттєвим підґрунтям для призначення патогенетичної терапії, а саме застосування корвітину, як нефропротекторного засобу за умов розвитку коморбідної патології, зокрема ЕП і АПМ.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення актуального наукового завдання, яке полягає у встановленні особливостей порушень протеолітичних процесів, ліпопероксидації, антиоксидантного захисту, антипротеазного потенціалу, системи оксиду азоту, гуморального і клітинного імунітету, цитокінового статусу в крові і нирках в механізмах пошкодження нирок за умов розвитку експериментальної пневмонії і адреналінового пошкодження міокарда.

Патогенетично обґрунтовано застосування корвітину з метою корекції порушених метаболічних і імунних процесів при експериментальній пневмонії асоційованою з адреналіновим пошкодженням міокарда.

1. Адреналінове пошкодження міокарда поєднане з експериментальною пневмонією на усіх етапах свого розвитку (1-а, 3-я, 6-а доби) з особливою перевагою на 14-у добу експерименту викликає виражений дисбаланс протеїназно-інгібіторної системи, що проявляється поступовою активізацією протеолітичних процесів – зростанням вмісту азоальбуміну, азоколагену, азоказеїну відповідно на 87,8% ($p<0,05$), 115,7% ($p<0,05$), 94,5% ($p<0,05$) на тлі пригнічення антипротеазного потенціалу – зниженням рівня альфа1-інгібітора протеаз і альфа2 – макроглобуліну в нирках відповідно на 47,2% ($p<0,05$), 46,8% ($p<0,05$) проти контрольної групи тварин та вказує на його важливу роль в механізмах пошкодження нирок.

2. Маніфестація адреналінового пошкодження міокарда асоційованого з експериментальною пневмонією супроводжується розвитком оксидантного стресу на усіх періодах їх формування з домінуванням на 14-у добу експерименту, що виражається послідовним зростанням процесів ліпопероксидації (підвищенням вмісту дієнових кон'югатів і малонового діальдегіду в нирках відповідно на 82,9% ($p<0,05$), 85,7% ($p<0,05$) в умовах пригнічення антиоксидантного захисту (зниженням активності супероксиддисмутази і каталази відповідно на 37,7% ($p<0,05$), 45,5% ($p<0,05$) в

порівнянні з інтактною групою тварин, що свідчить про його провідну роль в механізмах пошкодження нирок.

3. На усіх етапах формування коморбідної патології (експериментальної пневмонії і адреналінового пошкодження міокарда) з найвищим ступенем вираження (на 6-у і 14-у доби експерименту) відбувається суттєве порушення показників системи оксиду азоту – зростанням вмісту стабільних метаболітів оксиду азоту та сумарної активності синтаз оксиду азоту відповідно на 85,7% ($p<0,05$), 90,4% ($p<0,05$) та 41,6% ($p<0,05$), 58,3% ($p<0,05$) на тлі зниження рівня L-аргініну в нирках на 32,5% ($p<0,05$) і 35,0% ($p<0,05$) відносно першої групи тварин, що має важливе значення для розвитку механізмів пошкодження нирок.

4. У патогенезі пошкодження нирок важливу роль відіграє порушений імунний гомеостаз, який проявляється вираженим пригніченням клітинного (зниженням вмісту Т-лімфоцитів на 47,9% ($p<0,05$) та стимуляцією гуморального імунітету (підвищенням рівня В-лімфоцитів і циркулюючих імунних комплексів у крові відповідно на 73,7% ($p<0,05$), 51,6% ($p<0,05$) на усіх етапах розвитку експериментальної пневмонії і адреналінового пошкодження міокарда з особливою перевагою на 14-у добу проти контрольної групи тварин.

5. У динаміці (1-а, 3-я, 6-а і 14-а доби) формування експериментальної пневмонії і адреналінового пошкодження міокарда виявлено помітний дисбаланс співвідношення прозапальних цитокінів, а саме зростає вміст в крові інтерлейкіну – 6 і фактора некрозу пухлин – альфа відповідно на 80,3% ($p<0,05$), 63,0% ($p<0,05$) в умовах пригнічення активності протизапального цитокіну (зниження рівня інтерлейкіну-10 в крові на 52,6% ($p<0,05$), з перевагою на 14-у добу експерименту проти контролю. Це вказує на цитокіноопосередковане ушкодження тканинних структур організму, а саме нирок і суттєві зміни між специфічним імунітетом та неспецифічними захисними реакціями.

6. Застосування препарату корвітину призводило до зниження вмісту азоказеїну, азоальбуміну, азоколагену, дієнових кон'югатів, малонового діальдегіду, стабільних метаболітів оксиду азоту, сумарної активності синтаз оксиду азоту, циркулюючих імунних комплексів, В-лімфоцитів, інтерлейкіну-6 і

фактора некрозу пухлин-альфа та підвищення рівня альфа1-інгібітора протеаз, альфа2-макроглобулінів, інтерлейкіну – 10, Т-лімфоцитів, L-аргініну, активності супероксиддисмутази, каталази в нирках і крові, що свідчило про його антиоксидантний, імуномодуючий, нефропротекторний вплив на порушені показники імунних та метаболічних процесів за умов розвитку експериментальної пневмонії поєднаної з адреналіновим пошкодженням міокарда.

РЕКОМЕНДАЦІЇ ЩОДО НАУКОВОГО І ПРАКТИЧНОГО ВИКОРИСТАННЯ ЗДОБУТИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

Результати проведених комплексних імунологічних, імуноферментних та біохімічних досліджень дозволяють:

1. Впровадити на кафедрі патологічної фізіології та клінічних профільних кафедр (пульмонології, кардіології, урології, терапії) медичних вишів дані дослідження, що дадуть можливість розширити та поглибити знання щодо механізмів пошкодження нирок за умов розвитку пневмонії і адреналінового пошкодження міокарда.

2. Пропонувати для виявлення дисбалансу співвідношення між рівнем про- і протизапальних цитокінів та імунодефіциту в крові визначити вміст ІЛ-6, ФНП-а, ІЛ-10, Т і В-лімфоцитів і ЦІК в крові з метою з'ясування можливих механізмів пошкодження нирок при ЕП і ПМ.

3. Досліджувати показники протеолізу і антипротеазного потенціалу, перекисного окиснення ліпідів, антиоксидантного захисту, системи оксиду азоту в крові для виявлення очевидних механізмів пошкодження нирок при ЕП і АПМ.

4. Пропонувати патогенетичну обґрунтовану терапію шляхом застосування корвітину, який виявляв нефропротекторну, антиоксидантну, імунокоригуючу дію на порушені показники імунних і метаболічних процесів за умов формування ЕП і АПМ.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Апфельханс О. Л., Матюшенко П.М. Зміни рухової активності у щурів в тесті «відкрите поле» при хронічному непередбачуваному стресі при модуляції активності моноамінергічних нейромедіаторних систем. *Вісник морської медицини*. 2024. № 1 (102). С. 148-154.
2. Байда М.Л., Сольвар З.Л. Характеристика окремих компонентів гуморальної та клітинної ланок імунітету у крові мурчаків при експериментальному пародонтиті. *Одеський медичний журнал*. 2023. № 4. С. 18-21.
3. Байда М.Л. Роль порушень процесів ліпопероксидації і антиоксидантної системи в бронхах в патогенезі алергічного альвеоліту та їх корекція тіотриазоліном. *Медична гідрологія та реабілітація*. 2012. Т. 10. №1. С. 37-39.
4. Баланс про- та антиоксидантної системи у сироватці крові тварин за умов відтворення паклітакселіндукованої нейропатії та корекції. Тихонович К.В., Котвицька А.А., Береговий С.М., Непорада К.С. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2024. №3 (77). С. 138-148. DOI: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.13820923>
5. Бойченко О.М. Поширеність захворюваності на пародонтит у пацієнтів з ІХС, які страждають стабільною стенокардією напруги. *Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2011. Т. 11, № 4. С. 4-7.
6. Бородач В.О. Зрушення функціонального стану про- і антиоксидантної систем у міокарді, що виникли при пневмонії на тлі адреналінового пошкодження міокарда та їх корекція корвітином. *Медична гідрологія та реабілітація*. 2010. Т. 8, № 3. С. 24–27.
7. Бородач В.О. Особливості змін функціонального стану процесів перекисного окислення ліпідів та антиоксидантної системи у легенях морських свинок при експериментальній пневмонії на тлі адреналінового пошкодження

міокарда та корекція їх порушень корвітином. *Загальна патологія та патологічна фізіологія*. 2010. Т. 5, № 3. С. 29–33.

8. Бугаєнко В.В. Гендерні особливості діагностики, лікування та лікування ішемічної хвороби серця. *Український кардіологічний журнал*. 2015. №6. С. 100-12.

9. Веремеєнко К. Н., Голобородько О. П., Кизим А. И. Протеоліз в нормі і при патології. Київ: Здоров'я, 1988. 200 с.

10. Визначення продуктів ПОЛ в реакції з тіобарбітуровою кислотою / Коробейникова Е. Н. *Лаб. справа*. 1989. № 7. С. 8–10.

11. Вплив тіотриазоліну на первинну і вторинну імунну відповідь за умов формування контактного дерматиту та пневмонії. Регеда-Фурдичко М.М., Регеда М.С., Регеда С.М., Фурдичко Л.О. *Вісник медичних і біологічних досліджень*. 2020. №.4 (6). С. 59-62.

12. Вплив тіоцетаму на показники прооксидантної та антиоксидантної систем у надниркових залозах за умов експериментального пародонтиту та іммобілізаційного стресу / М. С. Регеда, П. В. Олексій, М. М. Регеда-Фурдичко, С. М. Регеда, М. А. Колішецька. *Одеський медичний журнал*. 2024. № 2 (187). С. 9-13.

13. Гаврилов В. Б., Мішкорудна М. І. Спектрофотометричне визначення вмісту гідроперекисів у крові. Лабораторна діагностика ішемічної хвороби серця. Київ: Здоров'я, 1989. С. 170–171.

14. Гладких Ф.В. Імунопатогенез мембранозної нефропатії та перспективи біологічної терапії: підводні камені та перли. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2024. №3 (77). С. 11-24. DOI: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.13820820>

15. Гоженко А.І., Гришко Ю.М. Функціонально-метаболічний континуум: Фізіологія і патологія. *Полтава*. 2020. С. 200.

16. Гоженко А.І., Ференц Н.М. Розвиток ендогенної інтоксикації в організмі морських свинок при експериментальній пневмонії в умовах

імобілізаційного стресу та корекція корвітином. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2015. № 2 (40). С. 115 – 119.

17. Годована О.І. Аспекти етіології та патогенезу запальних і дистрофічнозапальних захворювань пародонту. *Новини стоматології*. 2010. № 3 (64). С. 69–73.

18. Горбась І.М. Ішемічна хвороба серця: епідеміологія та статистика. *Кардіологія. Ревматологія. Кардіохірургія*. 2015. № 3(1). Доступно: <http://health-ua.com/article/15840-shemchna-hvoroba-sertcy-a-epdemologiya--statistika>.

19. Горошко О.М. Вплив антиоксидантних властивостей корвітину на перебіг експериментальної ниркової недостатності. *Буковинський медичний вісник*. 2007. Т. 11, №3. С. 119-121.

20. Городецький О.Т. Активність каталази в тканинах пародонта в динаміці формування експериментального пародонтиту та адреналінового пошкодження міокарда. *Охорона та захист здоров'я людини в умовах сьогодення: матеріали міжнародної науково-практичної конференції, 1-2 листопада 2019 р.* Київ. 2019. С. 12-13.

21. Городецький О.Т. Рівень цитокінів у крові в динаміці розвитку пародонтиту та адреналінового пошкодження міокарда та їх корекція корвітином *Медична наука та практика: виклики і сьогодення: збірник тез наукових робіт учасників міжнародної науково-практичної конференції, 21-22 серпня 2020 р.* Львів. 2020. С. 70-72.

22. Городецький О.Т., Регеда М.С. Значення процесів ліпопероксидації та активності антиоксидантної системи в міокарді за умов розвитку адреналінового пошкодження міокарда при експериментальному пародонтиті та корекція їх порушень корвітином. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2019. № 2 (38). С. 93-98.

23. Городецький О.Т., Регеда М.С. Роль процесів пероксидного окиснення ліпідів і антиоксидантної системи в міокарді в патогенезі формування адреналінового ушкодження міокарда. *Медична та клінічна хімія*. 2019. Т. 21. № 1 (78). С. 38-42.

24. Експериментальні моделі гострих пневмоній, спричинених умовно-патогенними бактеріями та їх асоціацій: Метод. рекомендації. В.Н. Шляпнікова, Т.Л. Солодова. 1988. 33 с.
25. Зубачик В. М., Яричківська Н. В. Роль оксиду азоту в гомеостазі тканин пародонта (огляд літератури). *Буковинський медичний вісник*. 2016. Том 20, № 2 (78). С. 194-198.
26. Казмірчук В. Є. Клінічна імунологія і алергологія. Вінниця. *Нова книга*. 2006. 526 с.
27. Кардіологія сімейного лікаря: навчальний посібник. В. М. Ждан [та ін.]. Полтава/ 2006. 257 с.
28. Керівництво до практичних занять з біохімії / Т. Л. Алейникова, Г. В. Рубцова, Н. А. Павлова. 2000. 128 с.
29. Клінічна імунологія та алергологія (посібник для проведення практичних занять). В. Чоп'як та ін. *Львів*: Видавець Тетюк Т. В. 2015. 207 с.
30. Коваленко В.М., Корнацький В.М. Стан здоров'я народу України та медичної допомоги третинному рівню. Київ: ДУ НДІ Інститут кардіології імені акад. М. Д. Стражеско; 2019. 223 с.
31. Ковальська М. Є. Патогенетичні особливості перебігу у морських свинок експериментального алергічного альвеоліту при стресі та вплив на них корвітину. Автореф. дис. на здобуття наук. ст. к.мед.н. Тернопіль. 2018. С. 20.
32. Ковальська М. Є. Зміни показників пероксидного окислення ліпідів у надниркових залозах при екзогенному алергічному альвеоліті в умовах стресу. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2017. №4.(32). С. 47–50.
33. Ковальська М. Є. Зміни функціонального стану прооксидантної та антиоксидантної систем у надниркових залозах морських свинок за умов формування експериментального алергічного альвеоліту. *Медична та клінічна хімія*. 2017. №4(73). Т 19. С. 93-98.
34. Ковальська М.Є. Медикаментозна корекція змін стану про- та антиоксидантної системи в тимусі мурчаків на усіх етапах розвитку

експериментального алергічного альвеоліту в умовах стресу. *Одеський медичний журнал*. 2018. № 1. С.

35. Костіна О.О. Патогенетичні особливості функціональних і метаболічних порушень серця в динаміці гострого ураження легень. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2017. Т. XVI. № 3, Ч. 2. С. 54.

36. Коротько Г.Ф. Протеоліз в регуляції функцій системи травлення. *Експер. і клін. гастроентерол.* 2013. № 10. С. 23–27.

37. Кришталь М.В., Гоженко А.І., Сірман В.М. Патофізіологія нирок. Навч. посіб. Фенікс. 2020. 144 С.

38. Лепавко А.А., Хара М.Р. Морфометричний аналіз структурного пошкодження міокарда в щурів різного віку і статі при дії токсичної дози адреналіну. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2009. №1. С.21-23.

39. Лис О.Б., Грушка О.І. Особливості змін активності трансаміназ у крові в динаміці поєднаної патології – іммобілізаційного стресу та адреналінового пошкодження міокарда та їх корекція L-аргініном. *Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія*. 2020. №3/4(91). С. 26-30.

40. Лис О.Б., Регеда М.С., Грушка О.І. Особливості порушень процесів пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в крові у динаміці розвитку іммобілізаційного стресу при адреналіновому ушкодженні міокарда. *Вісник наукових досліджень*. 2018. № 3. С. 134–137.

41. Мазур І.П. Клініко- морфологічна оцінка перебігу генералізованого пародонтитів пацієнтів з ішемічною хворобою серця. *Сучасна стоматологія*. 2018. № 2. С. 36-39.

42. Матолінець Т.М. Вплив корвітину на стан про- та антиоксидантної систем імунних органів тварин з експериментальним алергічним альвеолітом. *Практична медицина*. 20012. №4. С. 29-32.

43. Мамчур В. Й., Слесарчук В. Ю. Захисна дія препаратів кверцетину за умов моделювання іммобілізаційного стресу. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2008. №1-3. С. 38-43.

44. Маркова О.О. Міокардіодистрофія і реактивність організму. *Тернопіль: Укрмедкнига*. 1998. 152 с.
45. Мацегора Н.А., Шпота О.Є., Капрош А.В. Патогенетичні аспекти розвитку клінічно значущих судинних та поліорганних пошкоджень у хворих на хозл у сполученні з артеріальною гіпертензією. *Вісник морської медицини*. 2024. №3 (104). С. 184-190. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.13889364>
46. Мисула І.Р., Суховолець І.О. Перебіг пародонтиту при гіпоергічному та гіперергічному типах запальної реакції на фоні адреналінової міокардіопатії. *Медична та клінічна хімія*. 2013. Т. 15. № 3. С. 27-30.
47. Мошковська Ю.О. Використання коректорів метаболізму—сучасний підхід комбінованої терапії хворих на ішемічну хворобу серця. *Ліки України*. 2013. № 1. С. 66-69.
48. Небелюк Н.М. Визначення рівня дієнових кон'югатів у легеневій тканині за умов розвитку експериментальної бронхіальної астми у поєднанні з адреналіновим пошкодженням міокарду. *Актуальні питання сучасної медицини: наукові дискусії: зб. матеріалів міжнародної наук.-практ. конф., 27-28 жовтня 2017 р. Львів*. 2017. С. 37-39.
49. Небелюк Н.М. Визначення рівня малонового діальдегіду в легеневій тканині за умов розвитку експериментальної бронхіальної астми у поєднанні з адреналіновим пошкодженням міокарду. *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 .
50. Небелюк Н.М. Зміни рівня Т-лімфоцитів за умов розвитку експериментальної бронхіальної астми у поєднанні з адреналіновим пошкодженням міокарду. *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.
51. Носенко О.М., Демидчик Р.Я. Вираженість окислювального стресу в жінок з імплантаційною недостатністю. *Вісник морської медицини*. 2024. №3 (104). С. 95-69. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.13889146>

52. Олексій О. П., Регеда М. С., Гайдучок І. Г. Характеристика змін протеїназно–інгібіторної системи в тканинах пародонта в динаміці розвитку експериментального пародонтиту. *Вісник морської медицини*. 2023. № 3 (100). С. 146-150.

53. Олексій П. В. Зміни функціонального стану процесів ліпопероксидації та антиоксидантної системи в тканинах пародонта за умов формування експериментального пародонтиту та іммобілізаційного стресу. *Вісник морської медицини*. 2021. № 3 (92). С. 86-91.

54. Олексій П. В. Роль порушень імунологічної реактивності за умов формування експериментального пародонтиту та іммобілізаційного стресу. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2021. № 3 (65). С. 106-110.

55. Олексій П.В. Зміни функціонального стану процесів ліпопероксидації та антиоксидантної системи в тканинах пародонта за умов формування експериментального пародонтиту та іммобілізаційного стресу. *Вісник морської медицини*. 2021. №3 (92). С. 86-91. DOI: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.5593358>.

56. Особливості змін процесів перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи у ранній період формування експериментальної пневмонії. М.М. Регеда-Фурдичко, М.С. Регеда, С.М. Регеда, Л.О. Фурдичко. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2016. № 1 (25). С. 41–43.

57. Паньків В.І., Хуторська Л.А. Ризик загальної і серцево-судинної смертності, основних серцево-судинних подій у хворих на цукровий діабет 2-го типу залежно від вибору терапії після встановлення діагнозу. *Буковинський медичний вісник*. 2013. Т.17. № 1. С. 80-85.

58. Пасічник М.А. Стан протеїназо-інгібіторної системи в печінці за умов формування експериментального алергічного альвеоліту та корекція його порушень тіотриазоліном. *Медична хімія*. 2015. № 1 (62). С. 72-74.

59. Пархоменко О.М., Кожухов С.Н., Іркін О.І. Нові можливості фармакологічного впливу на прогноз у хворих на інфаркт міокарда з елевацією

сегмента ST та гострою серцевою недостатністю. Корвітин для ін'єкцій. *Укр. мед. часопис*. 2004. № 2. С. 33–37.

60. Патогістологічна характеристика гострої сулемової нефропатії у щурів з водним і сольовим режимом пиття після введення клітин фетальної печінки.. Гоженко А.І , Сірман В.М., Тюленева О.А., Роговий Ю.Є. 2024. №3 (104). С. 107-117. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.13889242>

61. Перцева Т. О., Белослудцева К. О. Індивідуалізація антибактеріальної терапії тяжкої негоспітальної пневмонії з урахуванням системного запалення та імунного статусу. *Медичні перспективи*. 2013. № 2. С. 25–31.

62. Пиндус В.Б. Особливості змін показників прооксидантної системи у легенях в умовах розвитку експериментального алергічного альвеоліту на тлі адреналіновго пошкодження міокарда та їх корекція тіотриазоліном. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2014. № 2 (21). С. 258.

63. Пиндус В.Б., Кресюн В.Й., Регеда М.С. Зрушення функціонального стану прооксидантно-антиоксидантних систем в легенях при експериментальному алергічному альвеоліті та адреналіновому пошкодженні міокарда та корекція їх тіотриазоліном. *Одеський медичний журнал*. 2015. № 3 (149). С. 5-7.

64. Пиндус В.Б. Дія препарату тіотриазоліну на ФАЛ в крові тварин з алергічним альвеолітом за умов АПМ. *Медична та клінічна хімія*. 2016. Т. 18, №2 (67). С. 35-37.

65. Пікас О.Б., Петренко В.І. Роль оксиду азоту і його метаболітів в організмі людини та у розвитку патологічних процесів. *Львівський медичний часопис*. 2006. Т.12, № 3/4. С.114-117.

66. Поліщук О., Дацюк Т., Сатурська Г. Патогенетичні особливості проявів серцевої недостатності в умовах розвитку експериментального дифузного кардіосклерозу. *Матеріали XVIII Міжнародного медичного конгресу студентів і молодих вчених (Тернопіль, 28-30 квіт. 2014 р.)*. Тернопіль, 2014. С. 215.

67. Прохорова М. І. Методи біохімічних досліджень. Л., 1982. 272 с.

68. Регеда М. С., Олекшій П. В. Вміст азоальбумінів та альфа-2 макроглобулінів в тканинах пародонта в динаміці розвитку експериментального пародонтиту та іммобілізаційного стресу. *Бюлетень XXI читань ім. В.В. Підвисоцького*, 23-24 червня 2022 р. Одеса, 2022. С. 93-95.

69. Регеда М. С., Олекшій П. В. Роль процесів ліпопероксидації та антиоксидантного захисту в тканинах наднирників в патогенезі розвитку іммобілізаційного стресу. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2023. № 1-2 (71-72). С. 142-148.

70. Регеда М. С., Регеда-Фурдичко М. М., Регеда С. М. Запалення: механізми пошкодження та захисту: монографія. Львів, 2021. 177 с.

71. Регеда М.С., Галій-Луцька В.В. Визначення ефективності корвітину та тіотриазоліну щодо корекції відхилень параметрів прооксидантно-антиоксидантної системи при експериментальному алергічному альвеоліті та іммобілізаційному стресі. *Вісник морської медицини*. 2023. №4 (101). С. 94-106.

72. Регеда М.С., Галій-Луцька В.В. Значення коригуючого впливу корвітину та тіотриазоліну на рівні деяких прозапальних цитокінів у крові при експериментальному поєднанні алергічного альвеоліту та іммобілізаційного стресу. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2023. №3 (73). С. 132-145.

73. Регеда М.С., Галій-Луцька В.В. Особливості змін ІЛ-10 крові в умовах експериментального поєднання алергічного альвеоліту та іммобілізаційного стресу і його фармакологічної корекції. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2023. №1-2 (71-72). С. 164-171.

74. 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 міокарду. *Медична наука та практика в умовах сучасних трансформаційних процесів: зб. матеріалів міжнародної наук.-практ. конф., 21-22 квітня 2017 р. Львів. 2017. С. 35-38.*

75. 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 міокарду. *Досягнення біології та медицини*. 2016 №1 (27). С. 27-30.

76. Регеда М.С., Олекшій П.В. Вплив препарату тіоцетаму на зрушення імунної системи крові морських свинок за умов формування експериментального пародонтиту та іммобілізаційного стресу. *Вісник морської медицини*. 2021. №4 (93). С. 107-111. DOI: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.5837838>.

77. Регеда М.С., Регеда-Фурдичко М.М., Фурдичко Л.О. Пневмонія. Монографія. *Львів*. 2021. С. 228.

78. Регеда М.С., Шклярський Н.В. Активність каталази в нирках за умов розвитку експериментальної пневмонії та адреналінового пошкодження міокарда. Матеріали IX Національного Конгресу патофізіологів України з міжнародною участю «Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України» присвячений 100 -річчю Української патологічної фізіології 19-21 вересня 2024 року. Івано-Франківськ. 2024. С. 217-218.

79. Регеда М.С., Шклярський Н.В. Значення порушень прооксидантно-антиоксидантних процесів у патогенезі розвитку експериментальної пневмонії та адреналінового пошкодження міокарда. Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. 2024. №2 (100). С. 58-64.

80. Регеда М.С., Шклярський Н.В. Особливості змін активності супероксиддисмутази в нирках в динаміці розвитку експериментальної пневмонії. Бюлетень XXIII читань ім. В.В. Підвисоцького 16-17- травня 2024 року. Одеса. 2024. С. 114-115.

81. Регеда М.С., Шклярський Н.В. Патогенетичні особливості змін імунної системи в динаміці розвитку експериментальної пневмонії і адреналінового пошкодження міокарда. Актуальні проблеми транспортної

медицини. 2024. №1 (75). С. 123-127. DOI<http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.10888619>

82. Регеда М.С., Шклярський Н.В. Роль цитокінів у патогенезі розвитку експериментальної пневмонії і адреналінового пошкодження міокарда. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2023. №3 (73). С. 155-161. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo10418137>.

83. Регеда С.М. Роль оксидантних і протеолітичних процесів в патогенезі розвитку пародонтиту та експериментальної пневмонії та корекція тіотриазоліном. *Одеський медичний журнал*. 2016. № 6. С. 48-51.

84. Регеда-Фурдичко М.М., Фурдичко Л.О., Регеда С.М. Активність глутатіонпероксидази в легенях у динаміці формування експериментальної пневмонії. *Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції*: матеріали VII Національного конгресу патофізіологів України з міжнародною участю, 5–7 жовтня 2016 р. Харків. 2016. С. 188.

85. Регеда-Фурдичко М.М., Фурдичко Л.О., Регеда С.М. Вміст імуноглобулінів М в крові в динаміці розвитку експериментальної пневмонії. *Актуальні проблеми клінічної, теоретичної, профілактичної медицини, стоматології та фармації: матеріали міжнародної наук.-практ. конф., 8–9 квітня 2016 р.* Одеса. 2016. С. 153–154.

86. Регеда-Фурдичко М.М., Фурдичко Л.О., Регеда С.М. Порушення імунного гомеостазу в ранній період розвитку експериментальної пневмонії. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2015. №4 (24). С. 52-54.

87. Регеда-Фурдичко М.М., Фурдичко Л.О., Регеда С.М. Порушення окремих показників імунної системи в крові у пізній період формування експериментальної пневмонії та їх корекція тіотриазоліном. *Одеський медичний журнал*. 2016. № 3 (155). С. 9–11.

88. Регеда-Фурдичко М.М., Фурдичко Л.О., Регеда С.М. Рівень циркулюючих імунокомплексів у крові за умов розвитку експериментальної пневмонії. *Роль сучасної медицини у житті людини та її місце у формуванні*

здорового способу життя: зб. матеріалів міжнародної наук.-практ. конф., 25–26 березня 2016 р. Львів. 2016. С. 103–105.

89. Роговий Ю.Є., Цитрін В.Я. Патофізіологія впливу молекулярного водню на перебіг гострого ушкодження нирок. Чернівці: БДМУ. 2024. 202 с. Монографія. ISBN 978-617-519-081-4.

90. Роль оксидативного стресу в патогенезі атеросклерозу та ішемічної хвороби серця. Гаврилюк С.О., Чекман І.С., Горчакова Н.О. та ін. *Укр. біохім. журн.* 2005. Т.77, №2. С. 16–23.

91. Роль процесів перекисного окиснення ліпідів і антиоксидантного захисту в легенях у пізньому періоді розвитку експериментальної пневмонії та корекція їх порушень тіотриазоліном. В.Й. Кресюн, М.М. Регеда-Фурдичко, С.М. Регеда, Л.О. Фурдичко. *Одеський медичний журнал.* 2016. № 1 (153). С. 26–29.

92. Роль процесів протеолізу та антипротеазного потенціалу в легенях в пізній період розвитку експериментальної пневмонії. Гоженко А.І., Регеда-Фурдичко М.М., Регеда М.С., Фурдичко Л.О. *Вісник морської медицини.* 2015. №4 (69). С. 121-125.

93. Сатурська Г.С. Сучасні патофізіологічні аспекти моделювання дифузного кардіосклерозу у щурів. *Здобутки клінічної та експериментальної медицини.* 2012. Т.16, №1. С. 124-127.

94. Сатурська Г.С. Застосування ендогенної кардіопротекції для корекції порушень гуморального імунітету при експериментальному дифузному кардіосклерозі у щурів з різною резистентністю до гіпоксії. *Медична та клінічна хімія.* 2015. Т. 17. № 2. С. 63-68.

95. Сатурська Г.С. Особливості змін цитокінового профілю крові при застосуванні триметазидину для корекції експериментального дифузного ішемічно-некротичного кардіосклерозу у щурів з різною стійкістю до гіпоксії. *Здобутки клін. та експерим. мед.* 2015. № 1 (22). С. 106-111.

96. Сатурська Г.С. Роль системи оксиду азоту у механізмах ініціації кардіосклеротичного процесу залежно від індивідуальної резистентності тварин

до гіпоксії та при корекції триметазидином. *Вісник наукових досліджень*. 2014. № 4 (77). С. 115-118.

97. Сатурська Г.С. Патогенетичні особливості розвитку дифузного ішемічно-некротичного кардіосклерозу за різної чутливості організму до гіпоксії. Автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д.мед.н. Тернопіль. 2016. С. 40.

98. Сольвар З.Л. Оцінка стану прооксидантної та антиоксидантної систем у легенях за умови розвитку експериментального алергічного альвеоліту. *VII Міжнародна науково-практична конференція „Modern research in world science”*, 2-4 жовтня 2022р. Львів, 2022. С. 166.

99. Сольвар З.Л. Порухення функціональної активності окремих показників прооксидантної та антиоксидантної систем в легенях у різні періоди формування експериментального алергічного альвеоліту. *Актуальні питання патології за умови дії надзвичайних факторів на організм: збірник матеріалів XIII Всеукраїнської науково-практичної конференції*, 26-28 жовтня 2022 р. Тернопіль, 2022. С. 66-67.

100. Сольвар З.Л. Характеристика змін окремих цитокінів у крові морських свинок за умови розвитку експериментального алергічного альвеоліту. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2022. № 4. С. 113-117. DOI: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.7495389>

101. Сольвар З.Л., Погорецька Я. О. Зміни в системі оксиду азоту в легенях мурчаків з експериментальним алергічним альвеолітом та експериментальним пародонтитом у різні періоди моделювання експерименту. *Вісник морської медицини*. 2023. № 4. С. 90-93.

102. Стан протейназно-інгібіторної системи у легенях у ранній період формування експериментальної пневмонії. А.І. Гоженко, М.М. Регеда-Фурдичко, М.С. Регеда, Л.О. Фурдичко. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2016. № 3 (45). С. 128–131.

103. Сумбаєв В. В., Ясинська І. М. Вплив ДДТ на активність синтази оксиду азоту в печінці, легенях і головному мозку щурів. Сучасні проблеми токсикології. 2000. № 3. С. 3–7.

104. Сусла О.Б. Вікові зміни метаболізму в серцевому м'язі щурів у динаміці розвитку адреналінової міокардіодистрофії. *Мед. хімія*. 2004. № 1. С. 41–47.

105. Ференц Н.М. Вплив препарату корвітину на активність трансаміназ в крові і печінці при експериментальній пневмонії в умовах іммобілізаційного стресу. *Вісник Вищої медичної освіти*. Науково-практичний журнал. 2015. №6. С. 72-75.

106. Ференц Н.М., Юревич В.Р. Роль процесів перекисного окислення ліпідів і системи антиоксидантного захисту в печінці у патогенезі експериментальної пневмонії та іммобілізаційного стресу і корекція їх порушень корвітином. *Медична хімія*. 2015. Т.17. № 4(62). С.100 – 103.

107. Чекаліна Н.І. Гендерний аналіз показників хронічного системного запалення у хворих на ішемічну хворобу серця. *Вісник проблем біології і медицини*. 2020. № 3 (157). С. 161–165.

108. Чугай О.О., Регеда М.С., Регеда С.М. Роль імунних і метаболічних процесів у патогенезі розвитку хронічного пародонтиту та пневмонії і корекція їх порушень кверцетином. *Journal of Education, Health and Sport*. 2017. Vol. 7, № 2. С. 786–798.

109. Чернушенко К.Ф., Когосова Л.С. Імунологія і імунопатологія захворювань легень. Київ: Здоров'я, 1981. 208 с.

110. Чугай О.О. Вплив кверцетину на показники ліпопероксидації та активності ферментів антиоксидантного захисту у слизовій оболонці пародонта та тканині легень у пізній період пневмонії. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2017. Т. 17, № 1. С. 260-263.

111. Чугай О.О. Особливості динаміки В-лімфоцитів у крові морських свинок у різні періоди пневмонії. *Сучасні проблеми клінічної фармакології з позиції доказової медицини* : матеріали наук.-практ. конф. з міжнародною участю, 13–14 квітня 2017 р. Тернопіль, 2017. С. 77.

112. Чугай О.О. Особливості динаміки показників ліпопероксидації та активності ферментів антиоксидантного захисту в слизовій пародонта у різні періоди формування експериментальної пневмонії. *Здобутки клінічної та експериментальної медицини*. 2016. № 4. С. 125-128.

113. Чугай О.О. Особливості динаміки Т-лімфоцитів у крові морських свинок у різні періоди експериментальної пневмонії. *Актуальні питання діагностики, лікування і профілактики неінфекційних захворювань в практиці сімейного лікаря: матеріали IV Всеукраїнської наук.-практ. конф., 16–17 березня 2017 р. Тернопіль, 2017. С. 74-75.*

114. Чугай О.О., Регеда М.С. Роль імунних процесів у патогенезі коморбідної патології – експериментальної пневмонії та хронічного пародонтиту. *Інтегративні механізми патологічних процесів: від експериментальних досліджень до клінічної практики* : матеріали VII Пленуму українського наукового товариства патофізіологів, 11–12 жовтня 2018 р. Полтава, 2018. С. 124-125.

115. Шклярський Н.В. Роль циркулюючих імунних комплексів у патогенезі розвитку експериментальної пневмонії та адреналінового пошкодження міокарда. Матеріали XIV Всеукраїнської науково-практичної конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» 23-25 жовтня 2024 року. Тернопіль. 2024. С. 67-68.

116. Anxiety and new onset of cardiovascular disease: critical review and meta-analysis. Batelaan N. M., Seldenrijk A., Bot M. et al. *Br. J. Psych.* 2016. Vol.208. №3. P. 223-231.

117. Armentia A, Fernández S. Occupational hypersensitivity pneumonitis caused by fossil-containing rocks. *Clin Chim Acta* [Internet]. 2022 Jan;524:139–45. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009898121003910>

118. Association of psychosocial risk factors with risk of acute myocardial infarction in 11119 cases and 13648 controls from 52 countries (the INTERHECT study): case-control study. A. Rosengren, S.Hawken, S. Ounpuu [et al.]. *Lancet*. 2004. Vol. 364. № 9438. P. 953 – 962.

119. Bahamonde T, Quintana-Donoso D, Linsambarth S. The insula mediates the effects of glucocorticoids in anxiety. *Neuropharmacology* [Internet]. 2023 Oct;237:109620. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0028390823002101>

120. Bastian D., Wu Y., Betts B. C. The IL-12 Cytokine and Receptor Family in Graft-vs.-Host Disease. *Front. Immunol.* [Internet]. 2019. Vol.10. P. 1-13. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2019.00988/full>

121. Bayeva M., Ardehali H. Mitochondrial dysfunction and oxidative damage to sarcomeric proteins. *Curr. Hypertens. Rep.* 2010. Vol. 12, № 6. P. 426-432.

122. Bergqvist C., Safi R., El Hasbani G. Neutrophil Extracellular Traps are Present in Immune-complex-mediated Cutaneous Small Vessel Vasculitis and Correlate with the Production of Reactive Oxygen Species and the Severity of Vessel Damage. *Acta Derm. Venereol.* 2020. Vol.100, № 17. P.1-7.

123. Castillo-Campos A, Gutiérrez-Mata A. Chronic stress inhibits hypothalamus-pituitary-thyroid axis and brown adipose tissue responses to acute cold exposure in male rats. *J. Endocrinol. Invest.* 2021. Vol. 44, № 4. P. 713–723.

124. Chatterjee A., Catravas J. D. Endothelial nitric oxide (NO) and its pathophysiologic regulation. *Vascul. Pharmacol.* 2008. Vol. 49, № 4-6. P. 134-140.

125. Chen C-S, Barnoud C, Scheiermann C. Peripheral neurotransmitters in the immune system. *Curr Opin Physiol* [Internet]. 2021 Feb;19:73–9. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2468867320301206>

126. Coletta C, Erdelyi K, Olah G. Hydrogen sulfide and nitric oxide are mutually dependent in the regulation of Angiogenesis and endothelium-dependent vasorelaxation. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2012; Vol.109 (23). P. 9161–9166.

127. Dai S, Mo Y, Wang Y. Chronic Stress Promotes Cancer Development. *Front Oncol* [Internet]. 2020 Aug 19;10:1–10. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fonc.2020.01492/full>

128. De Nicola AF, Meyer M, Guennoun R. Insights into the Therapeutic Potential of Glucocorticoid Receptor Modulators for Neurodegenerative Diseases. *Int*

J Mol Sci [Internet]. 2020 Mar 20;21(6):1–16. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/6/2137>

129. Demkovych A. Effects of flavonol quercetin on activity of lipid peroxide oxidation in experimental bacterial-immune periodontitis. *Interventional Medicine and Applied Science*. 2019. Vol. 11. №1. P. 55-59.

130. Dogne S., Flamion B., Caron N. Endothelial Glycocalyx as a Shield Against Diabetic Vascular Complications: Involvement of Hyaluronan and Hyaluronidases. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 2018. Vol. 38, № 7. P. 1427-1439.

131. Ferents N.M. Violation of specific indicators pigment and lipid metabolism in experimental pneumonia in immobilization stress and correction of Corvutin. *Jornal of Education, Health and Sport*. 2015. Vol. 9. P. 709–713

132. Fried R. Enzymatic and non-enzymatic assay of superoxide ifilii. *Biochemie*. 1975. Vol. 57, № 5. P. 657–660.

133. Furdychko L.O. Influence of indicators for thiotriazolin phagocytic activity of leucocytes in the blood in the later period of development of stomach ulcers against pneumonia. *Journal of Education, Health and Sport*. 2017. Vol. 7, № 7. P. 1310–1315.

134. Gandhi CK, Chen C, Amatya S,. SNP and Haplotype Interaction Models Reveal Association of Surfactant Protein Gene Polymorphisms With Hypersensitivity Pneumonitis of Mexican Population. *Front Med* [Internet]. 2021 Jan 5;7:1–14. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmed.2020.588404/full>

135. Gelfo V, Romaniello D, Mazzeschi M. Roles of IL-1 in Cancer: From Tumor Progression to Resistance to Targeted Therapies. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2020 Aug 20;21(17):1–14. Available from: <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/17/6009>

136. Gomes ML, Morais A. The association between fungi exposure and hypersensitivity pneumonitis: a systematic review. *Porto Biomed J* [Internet]. 2021 Jan;6(1):1–7. Available from: <https://journals.lww.com/10.1097/j.pbj.0000000000000117>

137. Guo Y., Cao W., Zhu Y. Immunoregulatory Functions of the IL-12 Family of Cytokines in Antiviral Systems. *Viruses*. 2019. Vol. 11, № 9. P. 1-12.

138. Haskova V., Kaslik J., Matejkava M. Novy způsob stanovení cirkulujících imunokomplexů v lidských sérech. *Cas. Lek. Ces.* 1977. T. 116, № 14. P. 436–437.

139. Holmes R., Masters C. Epigenetic interconversions of the multiple forms of mouse liver catalase. *FEBS Lett.* 1970. Vol. 11, № 1. P. 45–48.

140. Horodetskyi O. The role of prooxidative and antioxidant processes in periodontal tissue in the mechanisms of formation of adrenalin damage of myocardium and experimental periodontitis and their correction with Corvutin. *J. Education, health and sport.* 2019. Vol. 9, № 11. P. 269-276.

141. Hunter C. A., Jones S. A. IL6 as a keystone cytokine in health and disease. *Nat Immunol.* 2015. Vol. 16, № 5. P. 448–457.

142. Hydrogen Sulfide, Oxidative Stress and Periodontal Diseases: A Concise Review / M. Greabu, A. Totan, D. Miricescu, R. Radulescu et al. *Antioxidants (Basel).* 2016. № 5 (1). pii: E3.

143. Hypersensitivity pneumonitis: Current concepts in pathogenesis, diagnosis, and treatment / Barnes H., Troy L., Lee C. T. et al. *Allergy.* 2022. Vol. 77, № 2. P. 442-453.

144. Is the serum L-arginine level during early pregnancy a predictor of pregnancy-induced hypertension? Jingwen Wang, Tomomi Kotani, Hiroyuki Tsuda et al. *J. Clin. Biochem. Nutr.* 2015. Vol. 57 (1). P. 74–81.

145. Javed F., Ahmed H. B. Cytokine profile in the gingival crevicular fluid of rheumatoid arthritis patients with chronic periodontitis. *J. Investig. Clin. Dent.* 2014. Vol. 5, № 1. P. 1–8.

146. Jorgovanovic D., Song M., Wang L. Roles of IFN- γ in tumor progression and regression: a review. *Biomark. Res.* 2020. Vol. 49, № 8. P. 1-16.

147. Kameritsch P, Renkawitz J. Principles of Leukocyte Migration Strategies. *Trends Cell Biol* [Internet]. 2020 Oct;30(10):818–32. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0962892420301252>

148. Kang S., Tanaka T., Narazaki M. Targeting Interleukin-6 Signaling in Clinic. *Immunity.* 2019. Vol. 50, № 4. P. 1007-1023.

149. Kim B-G, Malek E, Choi SH. Novel therapies emerging in oncology to target the TGF- β pathway. *J Hematol Oncol* [Internet]. 2021 Apr 6;14(55):1–20. Available from: <https://jhoonline.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13045-021-01053-x>

150. Kuznetsova H.S., Kuznetsova K.S., Byts T.M., Mechanims of regeneration of the endothelium at diabetes melitus. 2018. Vol. 23(4). P. 384-390.

151. Legorreta-Haquet MV, Santana-Sánchez P, Chávez-Sánchez L. The effect of prolactin on immune cell subsets involved in SLE pathogenesis. *Front Immunol* [Internet]. 2022 Oct 28;13:1–15. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2022.1016427/full>

152. Leoetal C.H. Vascular actions of relaxin: nitric oxide and beyond. *British journal of pharmacology*. 2017. Vol. 174 (10). P. 1002–1014.

153. Levels of Candidate Periodontal Pathogens in Subgingival Biofilm / R. R. D. S. Oliveira, D. Fermiano, M. Feres et al. *J. Dent. Res.* 2016. Vol. 95, № 6. P. 711-718.

154. Lundberg J.O, Gladwin M.T., Weitzberg E. Strategies to increase nitricoxide Signalling in cardiovascular disease. *Nature reviews Drug discovery*. 2015. Vol. 14 (9). P. 623–641.

155. Lys O. Content of diene konugatives and malonic dialdehyde in blood for rats in dynamics of formation of immobilizational stress. *Conference "Technology transfer: innovative solutions in medicine"*, 30.10.2018. Tallinn, 2018. P. 18-20.

156. Lys O., Regeda M. Endogenic intoxication in blood under conditions of combination pathology – immobilizational stress and adrenaline myocardial damage and correction of L-Arginin. *Journal of Education, Health and Sport*. 2019. Vol. 9(3). P. 218-224.

157. Meta-analysis of anxiety as a risk factor of cardiovascular disease. Emdin C. A., Odutayo A., Wong C. X. et al. *Am. J. Cardiol*. 2016. Vol. 118. № 4. P. 511-519.

158. Mograbi K.M., Suchecki D. Chronic unpredictable restraint stress increases hippocampal pro-inflammatory cytokines and decreases motivated behavior in rats. *Stress*. 2020. Vol. 23, № 4. P. 427–436.

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

160. Olekshij P.V. Characteristics of cytokine status in the pathogenesis of experimental periodontitis and immobilization stress. *Journal of Education, Health and Sport*. 2021. Vol. 11, № 08. P. 504-509.

161. Olekshij P.V. Dynamics of changes in nonspecific resistance of guinea pigs under conditions of formation of experimental periodontitis and immobilization stress. *Journal of Education, Health and Sport*. 2021. Vol. 11, № 11. P. 67-72.

162. Olekshij P.V. Evaluation of endogenous intoxication indicators in the dynamics of experimental periodontitis and immobilization stress. *Journal of Education, Health and Sport*. 2021. Vol. 11, № 10. P. 263-268.

163. Olekshij P.V., Regeda M.S., Hayduchok I.G. The state of the cytokine profile under the conditions of the immobilization stress development. *Journal of Education, Health and Sport*. 2023. Vol. 47, № 1. P. 69-74.

164. Olekshij P.V., Regeda M.S Peculiarities of changes in endogenous intoxication indicators in the dynamics of the experimental periodontitis development. *Journal of Education, Health and Sport*. 2023. Vol. 13, № 2. P. 309-314.

165. Panettieri R.A., Schaafsma D., Amrani Y. Non-genomic Effects of Glucocorticoids: An Updated View. *Trends Pharmacol. Sci*. 2019. Vol. 40, № 1. P. 38-49.

166. Pyrillou K., Burzynski L. C., Clarke M. C. H. Alternative Pathways of IL-1 Activation, and Its Role in Health and Disease. *Front. Immunol*. 2020. Vol. 11. P. 1-19. DOI: 10.3389/fimmu.2020.613170

167. Radu-Valentin Coltuc, Stoica V. Metabolic Syndrome – Cardiovascular and Metabolic, Complex, Difficult to Quantify Risk Factor. *Modern Medicine*. 2016. Vol. 23, № 1. P. 54-59.

168. Rajapakse N.W., Nanayakkara S., Kaye D.M. Pathogenesis and treatment of the cardiorenal syndrome: Implications of L-arginine-nitric oxide pathway

impairment/ Pharmacol. Ther. 2015 May 16. Nitric Oxide Dysregulation in Patients With Heart Failure: The Association of Depressive Symptoms With L-Arginine, Asymmetric Dimethylarginine, Symmetric Dimethylarginine, and Isoprostane. Mommersteeg, Paula M.C., Schoemaker, Regien G. et al. *Psychosomatic Medicine*. 2015. Vol. 77, Issue 3. P. 292–302.

169. Regeda M.S., Shklyarskyi N.V. The effect of corvitin on the impaired indicators of the proteinase-inhibitory system in the kidneys under the conditions of the development of experimental pneumonia and adrenaline damage to the myocardium. *Journal of Education, Health and Sport*. 2024;70:56502. <https://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2024.70.56502>

170. Regeda M.S., Shklyarskyi N.V. The effect of corvitin on the indicators of the nitric oxide system in the kidneys under the conditions of the development of experimental pneumonia and adrenaline damage to the myocardium. *Journal of Education, Health and Sport*. 2024;68:56501. <https://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2024.68.56501>

171. Regeda-Furdychko M.M. Characteristic of individual indicators of phagocytic activity of leukocytes under conditions of formation of experimental contact dermatitis and experimental pneumonia and the effect of the drug thiotriazoline. *Journal of Education, Health and Sport*. 2019. Vol. 9, № 10. P. 322–327.

172. Regeda-Furdychko M.M. Evaluation of the influence of thiotriazoline on the cytokine status disturbances in the blood serum under the condition of experimental contact dermatitis and experimental pneumonia. *Journal of Education, Health and Sport*. 2020. Vol. 10, № 1. P. 25–30

173. Regeda-Furdychko M.M. The level of endogenic intoxication in the dynamics of development of experimental contact dermatitis and experimental pneumonia and their correction by thiotriazoline. *Journal of Education, Health and Sport*. 2019. Vol. 9, № 11. P. 287–292.

174. Rittig A.H., Hilberg O., Ibsen R. Incidence, comorbidity and survival rate of hypersensitivity pneumonitis: a national population-based study. *ERJ Open Res.* 2019. Vol. 5, № 4. P. 1-7.

175. Rozansky A. Psychosocial risk factors and cardiovascular disease: epidemiology, screening, and treatment considerations. *Cardiovasc. Innov. Applications.* 2016. Vol. 1. № 4. P. 417-431.

176. Sarasola M de la P., Táquez Delgado M. A., Nicoud M. B. Histamine in cancer immunology and immunotherapy. Current status and new perspectives *Pharmacol. Res. Perspect* [Internet]. 2021. Vol. 9. P. 1-28. Available from: <https://bpspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/prp2.778>

177. Schmidt H.H.W. Determination of Nitrite and Nitrate in Culture Media. *Acta Biochemica.* 1995. Vol. 2. P. 323–327.

178. Schoppmeyer R., van Buul J. D. The diapedesis synapse: dynamic leukocyte-endothelium interactions. *Curr. Opin. Physiol.* [Internet]. 2021. Vol. 19. P. 1-9. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2468867320300523>

179. Silva L.B., dos Santos Neto A.P., Maia S.M.A.S. The Role of TNF- α as a Proinflammatory Cytokine in Pathological Processes. *Open. Dent. J.* [Internet]. 2019. Vol. 13. P. 332-338. Available from: <https://opendentistryjournal.com/VOLUME/13/PAGE/332/>

180. Solvar Z. The assesment of lipid peroxidation processes disturbances in animals' lungs in condition of experimental parodontitis development. *J. Education, Health and Sport.* 2022. Vol. 12, № 11. P. 367-370. DOI: <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2022.12.11.049>

181. Taverne Y.J.H.J., Bogers A.J.J.C. Reactive oxygen species and the cardiovascular system. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* 2013. Vol. 2013. №862423. P. 1-15.

182. Teh Y.C., Ding J.L., Ng L.G. Capturing the Fantastic Voyage of Monocytes Through Time and Space. *Front. Immunol.* 2019. Vol. 10. P. 1-9.

183. The complex influence of the combination of the BDNF (rs6265), VDR (rs2228570), and NMDA (rs4880213) genotypes on the development of cognitive

disorders in patients with autoimmune thyroiditis and hypothyroidism / I. Kamyshna, L. Pavlovych, I. Pankiv et al. *Міжнародний ендокринологічний журнал*. 2023. Т. 19, № 1. С. 14-50.

184. The effect of cranoskeletal trauma complicated by blood loss on the functional state of the liver in the early period of traumatic disease in rats with different resistance to hypoxia and their correction/ D. O. Sikirynska, A.A. Hyduma, A. H. Shulhai, K. A. Pokhodun. *Journal of Education, Health and Sport*. 2021. Vol. 11, № 2. P. 256–269.

185. Volotovska N.V. Experimental Liver Peroxidation Against the Background of Limb Ischemia-Reperfusion Injury – Is There a Pathogenic Difference Between Its Modifications? *Southeastern European Medical Journal*. 2020. Vol. 4, № 2. P. 1-11.

186. Volotovska N.V. Katalase activity as a signal of antioxidant system affection under influence of limb ischemia-reperfusion. *Eureca: Health Sciences*. 2021. № 2. P. 24-30.

187. Xu D., Mu R., Wei X. The Roles of IL-1 Family Cytokines in the Pathogenesis of Systemic Sclerosis. *Front Immunol* [Internet]. 2019. Vol. 10. P. 1-8. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2019.02025/full>

188. Zhebel VM, Strazhynska OL. Нові можливості застосування блокатора ішемічного каскаду в терапії гострого інфаркту міокарда. *Emerg Med* [Internet]. 2022 Mar 26;18(1):35–41. Available from: <https://emergency.zaslavsky.com.ua/index.php/journal/article/view/1456>

189. Zhu J., Fan J., Xia Y. Potential therapeutic targets of macrophages in inhibiting immune damage and fibrotic processes in musculoskeletal diseases. *Front. Immunol* [Internet]. 2023. Vol. 14. P. 1-20. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2023.1219487/full>

ДОДАТОК А

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗАТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ:

1. Регеда М.С., Шклярський Н.В. Роль цитокінів у патогенезі розвитку експериментальної пневмонії і адреналінового пошкодження міокарда. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2023. №3 (73). С. 155-161. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo10418137>.
2. Регеда М.С., Шклярський Н.В. Значення порушень прооксидантно-антиоксидантних процесів у патогенезі розвитку експериментальної пневмонії та адреналінового пошкодження міокарда. *Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія*. 2024. №2 (100). С. 58-64.
3. Регеда М.С., Шклярський Н.В. Патогенетичні особливості змін імунної системи в динаміці розвитку експериментальної пневмонії і адреналінового пошкодження міокарда. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2024. №1 (75). С. 123-127. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.10888619>
4. Regeda M.S., Shklyarskyi N.V. The effect of corvitin on the impaired indicators of the proteinase-inhibitory system in the kidneys under the conditions of the development of experimental pneumonia and adrenaline damage to the myocardium. *Journal of Education, Health and Sport*. 2024;70:56502. <https://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2024.70.56502>
5. Regeda M.S., Shklyarskyi N.V. The effect of corvitin on the indicators of the nitric oxide system in the kidneys under the conditions of the development of experimental pneumonia and adrenaline damage to the myocardium. *Journal of Education, Health and Sport*. 2024;68:56501. <https://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2024.68.56501>
6. Регеда М.С., Шклярський Н.В. Активність каталази в нирках за умов розвитку експериментальної пневмонії та адреналінового пошкодження міокарда. *Матеріали IX Національного Конгресу патофізіологів України з*

міжнародною участю «Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України» присвячений 100 -річчю Української патологічної фізіології 19-21 вересня 2024 року. Івано-Франківськ. 2024. С. 217-218.

7. **Шклярський Н.В.** Роль циркулюючих імунних комплексів у патогенезі розвитку експериментальної пневмонії та адреналінового пошкодження міокарда. *Матеріали XIV Всеукраїнської науково-практичної конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» 23-25 жовтня 2024 року.* Тернопіль. 2024. С. 67-68.

8. Регеда М.С., **Шклярський Н.В.** Особливості змін активності супероксиддисмутази в нирках в динаміці розвитку експериментальної пневмонії. *Бюлетень XXIII читань ім. В.В. Підвисоцького 16-17- травня 2024 року.* Одеса. 2024. С. 114-115.

ДОДАТОК Б

Відомості про апробацію матеріалів дисертації:

- IX Національний Конгрес патофізіологів України з міжнародною участю «Патологічна фізіологія – охороні здоров'я України» присвячений 100 - річчю Української патологічної фізіології (м. Івано-Франківськ, 19-21 вересня 2024 р) – *публікація*;
- XIV Всеукраїнська науково-практична конференція «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» (м. Тернопіль, 23-25 жовтня 2024 р.) – *публікація*;
- XXIII читання ім. В.В. Підвисоцького (м. Одеса, 16-17- травня 2024 р.) – *публікація*.

ДОДАТОК В.1**„ЗАТВЕРДЖУЮ”**

Проректор з наукової роботи
Тернопільського національного медичного
університету імені І.Я. Горбачевського
МОЗ України
д.біол.наук, професор

Іван КЛІЩ

„5” 2025 р.

**АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ**

1. Пропозиція для впровадження: Патогенетичні механізми пошкодження нирок за умов розвитку адреналінового пошкодження міокарда та експериментальної пневмонії та її фармакокорекція.

2. Установа-розробник: Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького кафедра патологічної фізіології.

Розроблювачі: Шклярський Н.В.

Джерело інформації: Регеда М.С., Шклярський Н.В. Роль цитокінів у патогенезі розвитку експериментальної пневмонії і адреналінового пошкодження міокарда. Актуальні проблеми транспортної медицини. 2023. №3 (73). С. 155-161.

Базова установа, яка проводить впровадження: Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра патологічної фізіології

3. Термін впровадження: лютий 2025 р.

4. Форма впровадження: В навчальний процес кафедри – лекційний курс та практичні заняття при розгляді теми «Запалення, як типовий патологічний процес», «Патофізіологія серцево-судинної, дихальної і сечовидільної системи».

5. Зауваження та пропозиції: Немає.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патологічної фізіології

Тернопільського національного медичного

університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України,

доктор медичних наук, професор

Ольга ДЕНЕФІЛЬ

ДОДАТОК В.2

„ЗАТВЕРДЖУЮ”



Проректор з наукової роботи
Львівського медичного університету
д.мед.н., професор Юрій ФЕДОРОВ

„9” 03 2025 р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Патогенетичні механізми пошкодження нирок за умов розвитку адреналінового пошкодження міокарда та експериментальної пневмонії та її фармакокорекція.
2. **Установа-розробник:** Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького кафедра патологічної фізіології.
Розроблювачі: Шклярський Н.В.
Джерело інформації: Регеда М.С., Шклярський Н.В. Роль цитокінів у патогенезі розвитку експериментальної пневмонії і адреналінового пошкодження міокарда. Актуальні проблеми транспортної медицини. 2023. №3 (73). С. 155-161.
- Базова установа, яка проводить впровадження:** Львівський медичний університет, кафедра анатомії, фізіології та патології.
3. **Термін впровадження:** березень-квітень 2025 р.
4. **Форма впровадження:** В навчальний процес кафедри – лекційний курс та практичні заняття при розгляді теми «Запалення, як типовий патологічний процес», «Патофізіологія серцево-судинної, дихальної і сечовидільної системи».
5. **Зауваження та пропозиції:** Немає.

Відповідальний за впровадження:

Завідувачка кафедри анатомії, фізіології та патології

Львівського медичного університету, доцентка

Ольга РЯБУХА

ДОДАТОК В.3**«ЗАТВЕРДЖУЮ»**

Проректор закладу вищої освіти з науково-педагогічної роботи Івано-Франківського національного медичного університету МОЗ України

д. мед. н., професор Сергій П. ГРАЩЕНКО

„6” 03 2025 р.

**АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ**

1. Пропозиція для впровадження: Патогенетичні механізми пошкодження нирок за умов розвитку адреналінового пошкодження міокарда та експериментальної пневмонії та її фармакокорекція.

2. Установа-розробник: Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького кафедра патологічної фізіології.

Розроблювачі: Шклярський Н.В.

Джерело інформації: Регеда М.С., Шклярський Н.В. Роль цитокінів у патогенезі розвитку експериментальної пневмонії і адреналінового пошкодження міокарда. Актуальні проблеми транспортної медицини. 2023. №3 (73). С. 155-161.

Базова установа, яка проводить впровадження: Івано-Франківський національний медичний університет, кафедра патофізіології

3. Термін впровадження: березень-квітень 2025 р.

4. Форма впровадження: В навчальний процес кафедри – лекційний курс та практичні заняття при розгляді теми «Запалення, як типовий патологічний процес», «Патофізіологія серцево-судинної, дихальної і сечовидільної системи».

5. Зауваження та пропозиції: Немає.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патофізіології

Івано-Франківського національного медичного університету МОЗ України, заслужений діяч науки і техніки України, д.мед.н., професор

Любомир ЗАЯЦЬ

ДОДАТОК В.4**„ЗАТВЕРДЖУЮ”**

проректор закладу вищої освіти
Буковинського державного
медичного університету

з науково-педагогічної роботи

доцент **Володимир ХОДОРОВСЬКИЙ**

„07” 03 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Найменування пропозиції для впровадження:** Патогенетичні механізми пошкодження нирок за умов розвитку адреналінового пошкодження міокарда та експериментальної пневмонії та її фармакокорекція.
- 2. Ким запропонована, адреса, виконавець:** Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького кафедра патологічної фізіології. Шклярський Н.В.
- 3. Джерело інформації:** Регеда М.С., Шклярський Н.В. Роль цитокінів у патогенезі розвитку експериментальної пневмонії і адреналінового пошкодження міокарда. Актуальні проблеми транспортної медицини. 2023. №3 (73). С. 155-161.
- 4. Впроваджено:** Буковинський державний медичний університет, кафедра патологічної фізіології
- 5. Форма впровадження:** В навчальний процес кафедри – лекційний курс та практичні заняття при розгляді теми «Запалення, як типовий патологічний процес», «Патофізіологія серцево-судинної, дихальної і сечовидільної системи».
- 6. Термін впровадження:** вересень 2024 -лютий 2025 р.
- 7. Ефективність впровадження:** підвищення якості знань студентів при вивченні патофізіології серцево-судинної системи.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патологічної фізіології

Буковинського державного медичного

університету, доктор медичних наук, професор

Юрій РОГОВИЙ

ДОДАТОК В.5**„ЗАТВЕРДЖУЮ”**

Перший проректор з науково-педагогічної роботи Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького
к.б.о.д.н., доцентка Ірина СОЛОНИНКО

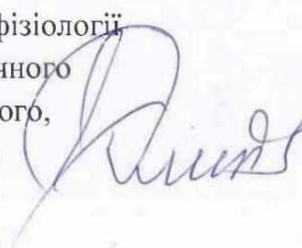
« _____ » 2025 р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Патогенетичні механізми пошкодження нирок за умов розвитку адреналінового пошкодження міокарда та експериментальної пневмонії та її фармакокорекція.
2. **Установа-розробник:** Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького кафедра патологічної фізіології.
Розроблювачі: Шклярський Н.В.
Джерело інформації: Регеда М.С., Шклярський Н.В. Роль цитокінів у патогенезі розвитку експериментальної пневмонії і адреналінового пошкодження міокарда. Актуальні проблеми транспортної медицини. 2023. №3 (73). С. 155-161.
- Базова установа, яка проводить впровадження:** Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра патологічної фізіології
3. **Термін впровадження:** лютий-березень 2025 р.
4. **Форма впровадження:** В навчальний процес кафедри – лекційний курс та практичні заняття при розгляді теми «Запалення, як типовий патологічний процес», «Патофізіологія серцево-судинної, дихальної і сечовидільної системи».
5. **Зауваження та пропозиції:** Немає.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патологічної фізіології
Львівського національного медичного
університету ім. Данила Галицького,
доктор медичних наук, професор



Михайло РЕГЕДА