

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

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Сольвар Зоряна Любомирівна

УДК:616.24-002-02:616-056.3]+616.314.17-008.6)]-085.27-092.9

**МЕХАНІЗМИ ФОРМУВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО
АЛЕРГІЧНОГО АЛЬВЕОЛІТУ ТА ПАРОДОНТИТУ
ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ L-АРГІНІНОМ**

221 – стоматологія

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

_____ З.Л. Сольвар

(підпис, ініціали та прізвище здобувача)

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

Львів-2024

АНОТАЦІЯ

Сольвар З.Л. «Механізми формування експериментального алергічного альвеоліту та пародонтиту та їх корекція L-аргініном». - Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 221 – Стоматологія (22 - Охорона здоров'я). – Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького МОЗ України, Львів, 2024.

Дисертаційна робота присвячена з'ясуванню патофізіологічних особливостей змін маркерів системи оксиду азоту, прооксидантної і антиоксидантної системи, цитокінового профілю, клітинного і гуморального імунітету в крові та в легенях в механізмах розвитку експериментального алергічного альвеоліту (ЕАА) асоційованого з експериментальним пародонтитом (ЕП) до та після використання L-аргініну.

З цією метою були проведені біохімічні, імунологічні та імуноферментні дослідження на 126 морських свинках (самцях). Маса тіла тварин варіювала від 180 до 220 г. Вони знаходилися на утриманні стандартного раціону віварію Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Досліджувані тварини були розподілені на п'ять груп: перша група – (контроль) інтактні тварини (9); друга група – морські свинки (36) з ЕАА, поділені на чотири підгрупи (по 9 тварин у кожній) в залежності від термінів виведення з експерименту: на 4-у, 7-у, 14-у і 24-у доби; третя група – тварини з ЕП (36), поділені на чотири підгрупи: на 4-у, 7-у, 14-у і 24-у доби експерименту; четверта група – морські свинки з ЕАА та ЕП (36), поділені на чотири підгрупи (по 9 тварин у кожній) на 4-у, 7-у, 14-у і 24-у доби експерименту до лікування; п'ята група - морські свинки з ЕАА та ЕП (9) на 24-у добу експерименту, яким проводили лікування. Застосовували препарат L-аргінін (виробництва ПрАТ Фармацевтична фірма «Дарниця»), який вводили внутрішньом'язово у дозі 150 мг/кг щоденно впродовж 11 днів (з 14-ї по 24-у доби).

Моделювали експериментальний алергічний альвеоліт за методом О. О. Орехова, Ю. А. Кирилова, [60] шляхом проведення попередньої імунізації за допомогою внутрішньом'язової ін'єкції 0,2 мл повного ад'юванта Фрейнда з подальшим внутрішньовенним введенням 0,2 мл 1% БЦЖ (бацили Кальмета-Жерена) на 4, 7, 14 та 24 доби дослідження у підгрупах тварин, що не були виведені з експерименту.

Експериментальний пародонтит відтворювали за методом Воскресенського О.Н. [9] з використанням моделі зниженої жувальної функції, згідно якої тварини знаходились на пастоподібному раціоні харчування, з нормою 65 г на добу протягом 24 діб. Модель обрана для відтворення пародонтиту – є класичною моделлю, яка рекомендована для доклінічного дослідження пародонтипротекторних властивостей лікарських засобів.

Встановлено, що експериментальний алергічний альвеоліт у поєднанні з експериментальним пародонтитом (4-а, 7-а, 14-а і 24-а доби) зумовив значні відхилення від норми у системі оксиду азоту, що проявлялися зростання вмісту стабільних метаболітів оксиду азоту (NO) відповідно на 90,0% ($P < 0,05$), 95,0% ($P < 0,05$), 100,0% ($P < 0,05$), 110,0% ($P < 0,05$) та сумарної активності синтаз оксиду азоту на 65,0% ($P < 0,05$), 66,7% ($P < 0,05$), 100,0% ($P < 0,05$), 133,3% ($P < 0,05$) та зниженням рівня L-аргініну в легенях на 57,5% ($P < 0,05$), 62,5% ($P < 0,05$), 65,0% ($P < 0,05$), 70,0% ($P < 0,05$) у порівнянні з контрольною групою тварин, що може свідчити про ініціацію імунно-запальних процесів у легенях і в тканинах пародонта та їх участь у патогенезі даних експериментальних моделей хвороб.

Використання препарату L-аргініну у дозі 150 мг/кг маси тіла, що вводили внутрішньом'язово, щоденно впродовж 11 днів (з 14-ої по 24-у доби) спричиняло зниження вмісту стабільних метаболітів оксиду азоту та сумарної активності синтаз NO в гомогенаті легеневої тканини відповідно на 30,9% і 53,5% ($P < 0,05$), а також зростання рівня L-аргініну на 150,0% ($P < 0,05$) в порівнянні з групою тварин (на 24-у добу експерименту), які не піддавалися впливові даного лікарського середника, що свідчило про його коригувальну дію на порушені

метаболичні процеси стосовно системи оксиду азоту за умов формування експериментального алергічного альвеоліту та пародонтиту.

Асоційований експериментальний алергічний альвеоліт з експериментальним пародонтитом на 4-у, 7-у, 14-у та 24-у доби супроводжується активацією процесів перекисного окислення ліпідів – підвищенням вмісту дієнових кон'югатів (ДК) у гомогенаті легень відповідно на 28,1% ($P<0,05$), 46,9% ($P<0,05$), 68,0% ($P<0,05$), 76,6% ($P<0,05$), малонового діальдегіду (МДА) на 30,9% ($P<0,05$), 60,4% ($P<0,05$), 67,3% ($P<0,05$), 82,0% ($P<0,05$) в умовах депресії антиоксидантного захисту – зниження активності супероксиддисмутази (СОД) відповідно на 20,3% ($P<0,05$), 24,1% ($P<0,05$), 33,4% ($P<0,05$), 39,8% ($P<0,05$), каталази (КТ) 28,4% ($P<0,05$), 33,8% ($P<0,05$), 39,0% ($P<0,05$), 40,8% ($P<0,05$), рівня церулоплазміну (ЦП) на 35,5% ($P<0,05$), 39,8% ($P<0,05$), 43,0% ($P<0,05$), 47,4% ($P<0,05$) у порівнянні з групою контрольних тварин, що вказувало на наявність оксидантного стресу та активацію ліпідних механізмів пошкодження клітин.

Використання L-аргініну зумовлювало зниження вмісту ДК і МДА в легенях відповідно на 39,3% ($P<0,05$) і 40,7% ($P<0,05$) та активацію антиоксидантної системи захисту, що виявлялося у зростанні СОД, КТ і ЦП відповідно на 44,5% ($P<0,05$), 55,6% ($P<0,05$), 62,8% ($P<0,05$) на 24-у добу експерименту при ЕАА та ЕП відносно групи тварин без впливу цього лікарського середника, що свідчило про його антиоксидантну дію на порушені маркери метаболічних процесів.

Маніфестація експериментального алергічного альвеоліту поєднаного з пародонтитом в динаміці їх розвитку (4-а, 7-а, 14-а, 24-а доби) зумовлює помітне поступове зростання концентрації фактора некрозу пухлин-альфа (ФНП-а) у крові відповідно на 70,3% ($P<0,05$), 75,7% ($P<0,05$), 83,8% ($P<0,05$), 89,2% ($P<0,05$) і інтерлейкіну-6 (ІЛ-6) на 50,9% ($P<0,05$), 59,6% ($P<0,05$), 68,4% ($P<0,05$), 71,9% ($P<0,05$) на фоні зниження активності інтерлейкіну -10 (ІЛ-10) на 40,9% ($P<0,05$), 42,1% ($P<0,05$), 43,2% ($P<0,05$), 44,3% ($P<0,05$) в порівнянні з першою групою тварин, що вказує на порушення балансу між прозапальними і

протизапальними цитокінами, наслідком чого є ураження органів, наростання імунного процесу та їх участь в механізмах формування цих експериментальних моделей хвороб.

Застосування L-аргініну тваринам з коморбідною патологією (ЕАА і ЕП) призводить до цитокінокоригувального впливу, яке проявлялося зниженням вмісту ФНП-а і ІЛ-6 в крові відповідно на 35,7% ($P<0,05$), 30,6% ($P<0,05$) та підвищенням рівня ІЛ-10 на 55,1% ($P<0,05$) у порівнянні з групою тварин з даними моделями хвороб на 24-у експерименту, яким не вводили даний препарат. Досліджено, що при поєднанні алергічного альвеоліту і пародонтиту (4-а, 7-а, 14-а, 24-а доби) спостерігається зниження вмісту Т-лімфоцитів у крові відповідно на 24,2% ($P<0,05$), 32,2% ($P<0,05$), 36,3% ($P<0,05$), 40,8% ($P<0,05$) та підвищення концентрації В-лімфоцитів та циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) відповідно на 24,4% ($P<0,05$), 39,7% ($P<0,05$), 59,6% ($P<0,05$), 84,0% ($P<0,05$) та 33,8% ($P<0,05$), 50,1% ($P<0,05$), 60,0% ($P<0,05$), 70,2% ($P<0,05$) проти контролю, що характеризує порушення імунного гомеостазу, яке проявлялося інгібуванням клітинної відповіді на фоні стимуляції гуморального імунітету та на їх участь у патогенезі формування цих коморбідних патологій.

Застосування препарату L-аргініну зумовило підвищення вмісту Т-лімфоцитів у крові на 54,3% ($P<0,05$) і зниження рівня В-лімфоцитів і ЦІК відповідно на 37,9% ($P<0,05$) і 35,6% ($P<0,05$) проти групи тварин на 24-у добу експерименту при ЕАА і ЕП до корекції цим препаратом, що вказувало на його імунокоригуючий вплив на порушені показники імунних процесів.

Наукова новизна отриманих результатів. Уперше з'ясовані патофізіологічні особливості змін системи оксиду азоту, процесів ліпопероксидації та антиоксидантного захисту, цитокінового профілю, гуморального та клітинного імунітету в крові і легенях та доведена їх роль та активна участь в механізмах розвитку експериментального алергічного альвеоліту поєданого з пародонтитом.

Уперше встановлено, що експериментальний алергічний альвеоліт асоційований з пародонтитом в динаміці експериментального моделювання

спричиняє порушення балансу в системі оксиду азоту, а саме підвищення вмісту стабільних метаболітів оксиду азоту та сумарної активності NO синтаз на фоні зниження рівня L-аргініну в гомогенаті легеневої тканини з досягненням максимальних величин на 14-у і 24-у доби експерименту.

Уперше виявлено, що на усіх стадіях експериментальної моделі алергічного альвеоліту поєданого з пародонтитом відбувається поетапне посилення процесів ліпопероксидації на тлі виснаження, як ферментативної так і неферментативної ланок антиоксидантного захисту з розвитком оксидантного стресу з перевагою на 14-у і 24-у доби експерименту.

Уперше показано, що асоційований експериментальний алергічний альвеоліт з пародонтитом супроводжується помітним дисбалансом цитокінів, а саме підвищенням прозапальних цитокінів на тлі зниження протизапального цитокіну, як у ранній так у пізній їх періоди розвитку з найбільшим ступенем вираження на 24-у добу експерименту.

Уперше визначено, що впродовж усіх етапів розвитку експериментального алергічного альвеоліту і пародонтиту спостерігалось порушення імунної системи, яке супроводжувалося депресією клітинної імунної відповіді та активацією гуморального імунітету з домінуванням на 14-у і 24-у доби експерименту.

Уперше доведено, антиоксидантну, імунно- і цитокінокоригуючу дію L-аргініну на порушені показники метаболічних і імунних процесів за умов розвитку поєданого алергічного альвеоліту і пародонтиту.

Практичне значення отриманих результатів. Отримані результати досліджень поглиблюють і розширюють сучасні уявлення про механізми розвитку експериментального алергічного альвеоліту і експериментального пародонтиту і можуть бути використані в подальшій науково-дослідній та педагогічній роботі. Доведена антиоксидантна та цитокіно- і імунокоригуюча дія L-аргініну вказує на перспективність і доцільність їх подальшого дослідження і вивчення в експерименті так і в клініці (пульмонології, алергології, стоматології) з метою корекції порушень метаболічних та імунних

процесів за умов розвитку експериментального алергічного альвеоліту і пародонтиту та розробки методичних вказівок.

Результати дослідження впроваджені в навчальний процес на кафедрі патологічної фізіології Івано-Франківського національного медичного університету, Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського, Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, ВДНЗ України “Буковинський державний медичний університет”, кафедрі анатомії, фізіології та патології Львівського медичного університету, що підтверджено актами впровадження.

Ключові слова: експериментальний алергічний альвеоліт, експериментальний пародонтит, цитокіни, оксид азоту, імунна система, перекисне окиснення ліпідів, антиоксидантна система, L-аргінін.

Список публікацій здобувача за темою дисертації.

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Сольвар З.Л. Характеристика змін окремих цитокінів у крові морських свинок за умови розвитку експериментального алергічного альвеоліту. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2022 р. № 4 (70), С. 113-117. <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.7495389>

2. Регеда М.С., Сольвар З.Л. Особливості зрушень про- та протизапальних цитокінів у крові мурчаків за умови розвитку експериментального пародонтиту та експериментального альвеоліту та їх фармакологічна корекція. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2023 р. №1-2 (71-72), С. 158-163. <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.7617488>. *(Особистий внесок - самостійно виконано дослідження, статистично опрацьовано отримані результати, написано текст та сформульовано висновки).*

3. 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. [10.32782/2226-2008-2023-4-3](https://doi.org/10.32782/2226-2008-2023-4-3)

(Особистий внесок – виконання дослідження, здійснення статистичного опрацювання отриманих результатів, написання тексту та висновків).

4. 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(101). С. 90-93.

<http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.10606742>

(Особистий внесок - виконання дослідження, здійснення статистичного опрацювання отриманих результатів, написання тексту та висновків).

5. Solvar Z. The assesment of lipid peroxidation processes disturbances in animals` lungs in condition of experimental parodontitis development. *Journal of Education, Health and Sport*. 2022;Vol. № 12 (11) P. 367-370.

<http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2022.12.11.049>

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

6. Сольвар З.Л. Порушення 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 2022р, Тернопіль. 2022. С. 66-67.

7. 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. С.166.

SUMMARY

Solvar Z.L. Mechanisms of formation of experimental allergic alveolitis and periodontitis and their correction with L-arginine. - Qualifying scientific work written as a manuscript.

Thesis for the Doctor of Philosophy Degree in the Field of Study 221 – Dentistry (22 – Healthcare). – Danylo Halytsky Lviv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Lviv, 2024.

The dissertation is concerned with the elucidation of the pathophysiological features of changes in the markers of the nitric oxide system, the prooxidant and antioxidant system, the cytokine profile, cellular and humoral immunity within blood and lungs in the mechanisms of the development of the experimental allergic alveolitis (EAA) associated with experimental periodontitis (EP) before and after use of L-arginine.

In order to achieve the aim of the research, biochemical, immunological and immunoenzymatic studies were conducted on 126 guinea pigs (males). The weight of animals varied from 180 to 220g. They were kept on a standard diet of the vivarium of Danylo Halytsky Lviv National Medical University.

The experimental animals were divided into five groups: the first group – (control) intact animals (9); the second group – guinea pigs (36) with EAA, which consisted of four subgroups (9 animals in each) depending on the terms of withdrawal from the experiment: on the 4th, 7th, 14th and 24th days of the experiment before treatment (36); the third group - animals with EP (36) which were divided of four subgroups: on the 4th, 7th, 14th and 24th days of the experiment before treatment (36); the fourth group – guinea pigs with EAA and EP (36), which were divided of four subgroups (9 animals of each) on the 4th, 7th, 14th and 24th days of the experiment before treatment (36); the fifth group - guinea pigs with EAA and EP (9) on the 24th day of the experiment after treatment. The medication L-arginine (manufactured by PrJSC Pharmaceutical Firm "Darnytsia") was used and

administered intramuscularly at a dose of 150 mg/kg daily for 11 days (from the 14th to the 24th day).

Experimental allergic alveolitis was modeled according to the method of O.O. Orekhov, Y.A. Kyrylov, by carrying out preliminary immunization with the help of an intramuscular injection of 0.2 ml of Complete Freund's adjuvant followed by intravenous administration of 0.2 ml of 1% BCG vaccine (Bacillus Calmette–Guérin vaccine) on 4, 7, 14 and 24 days of the study in subgroups of animals that were not removed from the experiment.

Experimental periodontitis was reproduced according to the method of O.N. Voskresenskyi [18] with the use of a model of reduced masticatory function, according to which the animals were on a paste-like diet, with a norm of 65 g per day for 24 days. The chosen model, aiming to reproduce periodontitis, is a classic model that is recommended for preclinical research on the periodontal protective properties of medications.

Experimental allergic alveolitis combined with experimental periodontitis (4th, 7th, 14th and 24th days) causes significant violations of the indicators of the nitric oxide system, namely a gradual increase in the content of stable metabolites of nitric oxide (NO), respectively, by 90.0 % (P<0.05), 95.0% (P<0.05), 100.0% (P<0.05), 110.0% (P<0.05) and of total activity of nitric oxide synthase by 65.0% (P<0.05), 66.7% (P<0.05), 100.0% (P<0.05), 133.3% (P<0.05) on the background significant decrease in the level of L-arginine in the lungs by 57.5% (P<0.05), 62.5% (P<0.05), 65.0% (P<0.05), 70.0% (P<0.05) against the control group of animals, which indicates a marked activation of immune-inflammatory processes in the lungs and periodontal tissues and their participation and important role in the mechanisms of development of these experimental disease models.

The use of L-arginine at a dose of 150 mg/kg of body weight, administered intramuscularly daily for 11 days (from the 14th to the 24th day), caused a decrease in the stable metabolite content of nitric oxide and in the total activity of NO synthases in the lungs, respectively by 30.9% and 53.5% (P<0.05), and an increase in the level of L-arginine by 150.0% (P<0.05) in comparison to the group of animals (on

the 24th day of the experiment) that were not exposed to the influence of this medicinal agent, which testified to its corrective effect on disturbed metabolic processes in relation to the nitric oxide system under the conditions of experimental allergic alveolitis and periodontitisformation.

Associated experimental allergic alveolitis with experimental periodontitis on 4th, 7th, 14th, 24th days is accompanied by activation in lipid peroxidation processes - an increase in the content of diene conjugates (DC) in the lungs homogenate, respectively, by 28,1% (P<0.05), 46.9% (P<0.05), 68.0% (P<0.05), 76.6% (P<0.05), of malondialdehyde (MDA) by 30.9% (P<0.05), 60.4% (P<0.05), 67.3% (P<0.05), 82.0% (P<0.05) under the conditions of suppression of antioxidant protection - a decrease in the activity of superoxide dismutase (SOD) respectively by 20.3% (P<0.05), 24,1% (P<0,05), 33,4% (P<0,05), 39,8% (P<0,05), of catalase (CT) 28.4% (P<0.05), 33.8% (P<0.05), 39, 0% (P<0.05), 40.8% (P<0.05), of ceruloplasmin (CP) level by 35.5% (P<0.05), 39.8% (P<0.05), 43.0% (P<0.05), 47.4% (P<0.05) in comparison with control group of animals, which indicated the presence of oxidant stress and activation of lipid mechanisms of cell damage.

The use of L-arginine led to a decrease in the content of DC and MDA in the lungs, by 39.3% (P<0.05) and 40.7% (P<0.05) respectively, and to activation of antioxidant system of protection which was manifested in growth of SOD, CT and CP, respectively, by 44, 5% (P<0.05), 55.6% (P<0.05), 62.8% (P<0.05) on the 24th day of the experiment with EAA and EP relatively to the group of animals without the influence of this drug medium, which testified to its antioxidant effect on disturbed markers of metabolic processes.

The manifestation of experimental allergic alveolitis combined with periodontitis in the dynamics of their development (4th, 7th, 14th, 24th days) causes a noticeable gradual increase in the concentration of tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) in blood, respectively by 70, 3% (P<0.05), 75.7% (P<0.05), 83.8% (P<0.05), 89.2% (P<0.05) and of interleukin-6 (IL-6) by 50.9% (P<0.05), 59.6% (P<0.05), 68.4% (P<0.05), 71.9% (P<0, 05) on the background of a decrease in interleukin-10 (IL-10) by 40.9% (P<0.05), 42.1% (P<0.05), 43.2% (P<0.05), 44.3% (P<0.05) in

comparison to the first group of animals, indicating a marked imbalance between pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines. As a result damage to the tissues of organ structures, reinforcement of the immunopathological process in them and their participation in the mechanisms of formation of these experimental disease models are observed.

The use of L-arginine in animals with comorbid pathology (EAA and EP) leads to a cytokine-correcting effect, which was manifested by a decrease in the content of TNF- α and IL-6 in the blood, respectively, by 35.7% ($P<0.05$), 30.6% ($P<0.05$) and an increase in the level of IL-10 by 55.1% ($P<0.05$) compared to the group of animals with these disease models on the 24th day of experiment, which were not administered this drug. It was established that combined allergic alveolitis and periodontitis (4th, 7th, 14th, 24th days) is accompanied by a decrease in the content of T-lymphocytes in the blood respectively by 24.2% ($P<0.05$), 32.2% ($P<0.05$), 36.3% ($P<0.05$), 40.8% ($P<0.05$) and by an increase in the concentration of B-lymphocytes and circulating immune complexes (CIC) relatively by 24.4% ($P<0.05$), 39.7% ($P<0.05$), 59.6% ($P<0.05$), 84.0% ($P<0.05$) and 33.8% ($P<0.05$), 50.1% ($P<0.05$), 60.0% ($P<0.05$), 70.2% ($P<0.05$) against the control, that testified to the violation of immune homeostasis, which was manifested by the depression of cellular on the background of stimulation of humoral immunity and to their important role in the pathogenesis of the formation of these comorbide pathologies.

The use of L-arginine resulted in an increase in the content of T-lymphocytes in the blood by 54.3% ($P<0.05$) and in a decrease in the level of B-lymphocytes and CIC respectively by 37.9% ($P<0.05$) and 35.6% ($P<0.05$) against the group of animals on the 24th day of the experiment with EAA and EP before correction with this drug, which indicated its immunocorrective effect on disturbed indicators of immune processes.

Scientific novelty of the obtained results: for the first time, the pathophysiological features of changes in the nitric oxide system, processes of lipoperoxidation and antioxidant protection, cytokine profile, humoral and cellular immunity in the blood and lungs were clarified, and their role and active participation

in the mechanisms of the development of experimental allergic alveolitis associated with periodontitis was proven.

It was established for the first time that combined experimental allergic alveolitis with periodontitis in the dynamic of experimental modeling causes significant violations of the balance of the nitric oxide system, which is manifested by increase in the content of stable metabolites of nitric oxide and the total activity of NO synthase on the background of a decrease in the level of L-arginine in the lungs homogenate with the attainment of maximal level on the 14th and 24th day of the experiment.

For the first time, it was found out that at all stages of the development of experimental model of allergic alveolitis combined with periodontitis, there is a gradual increase in lipoperoxidation processes on the background of depletion of both enzymatic and non-enzymatic links of antioxidant protection with the development of oxidant stress predominating on the 14th and 24th days of the experiment.

For the first time, it was shown that the associated experimental allergic alveolitis with periodontitis is accompanied by a noticeable imbalance of cytokines, namely, by an increase in pro-inflammatory cytokines on the background of a decrease in anti-inflammatory cytokines, both at the early and late stages of their development, with the highest degree of manifestation on the 24th day of the experiment.

For the first time it was identified that during all stages of the development of experimental allergic alveolitis and periodontitis, a violation of the immune system was observed, that was accompanied by a depression of cellular on the background of stimulation of humoral immunity with dominance on the 14th and 24th days of the experiment.

For the first time, the antioxidant, immune and cytokine-correcting effect of L-arginine on disturbed indicators of metabolic and immune processes under the conditions of the development of combined allergic alveolitis and periodontitis was proven.

Practical significance of the obtained results. The obtained research results deepen and expand modern ideas about the mechanisms of development of experimental allergic alveolitis and experimental periodontitis and can be used in further scientific research and pedagogical work. The proven antioxidant and cytokine- and immunocorrective effect of L-arginine indicates the perspective and feasibility of their further research and study experimentally and in the clinic (pulmonology, allergology, dentistry) with the aim of correcting disorders of metabolic and immune processes under the conditions of the progressing of experimental allergic alveolitis and periodontitis and development of methodological guidelines.

The results of the study have been implemented in the educational process at the Department of Pathological Physiology of Ivano-Frankivsk National Medical University, I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Higher State Educational Establishment of Ukraine "Bukovinian State Medical University", at the Department of Anatomy, Physiology and Pathology of Lviv Medical University, which is confirmed by the acts of implementation.

Keywords: experimental allergic alveolitis, experimental periodontitis, cytokines, nitric oxide, immune system, lipid peroxidation, antioxidant system, L-arginine.

ЗМІСТ

Перелік умовних позначень	19
Вступ.....	20
Розділ 1 Сучасні уявлення про патогенез, діагностику та лікування екзогенного алергічного альвеоліту, етіологію і патогенез пародонтитів. Характеристика досліджуваного лікарського середника (L-аргініну).....	26
1.1 Патогенез, діагностика та лікування екзогенного алергічного альвеоліту.....	26
1.2 Етіологія і патогенез пародонтитів.....	37
1.3 Характеристика досліджуваного лікарського середника L- аргініну.....	44
Розділ 2 Матеріали та методи досліджень.....	48
2.1 Відбір тварин та розподіл їх на групи.....	48
2.2 Моделювання експериментального алергічного альвеоліту.....	49
2.3 Моделювання експериментального пародонтиту.....	50
2.4 Метод одержання гомогенатів легень у тварин	50
2.5 Імунологічні, імуноферментні та біохімічні методи дослідження.....	51
2.5.1 Імунологічні та імуноферментні методи дослідження.....	51
2.5.1.1 Дослідження вмісту Т-лімфоцитів у крові.....	51
2.5.1.2 Дослідження вмісту В-лімфоцитів у крові.....	52
2.5.1.3 Дослідження імунних комплексів у крові.....	53
2.5.2 Біохімічні методи дослідження	54
2.5.2.1 Дослідження дієнових кон'югатів.....	55
2.5.2.2 Дослідження малонового діальдегіду.....	55

2.5.2.3 Дослідження активності супероксиддисмутази	55
2.5.2.4 Дослідження активності каталази.....	56
2.5.2.5 Визначення вмісту церулоплазміну.....	56
2.5.2.6 Дослідження вільного аргініну.....	57
2.5.2.7 Дослідження сумарних продуктів оксиду азоту.....	57
2.5.2.8 Дослідження сумарної активності синтази оксиду азоту.	58
2.6 Статистичне опрацювання отриманих результатів.....	59
Розділ 3 Патофізіологічні особливості порушень показників системи оксиду азоту в легенях при експериментальному пародонтиті та алергічному альвеоліті та корекція їх L-аргініном.....	
3.1 Порушення параметрів системи оксиду азоту в динаміці розвитку експериментального пародонтиту	61
3.2 Особливості змін показників системи оксиду азоту в легенях в динаміці формування експериментального алергічного альвеоліту.....	64
3.3 Особливості порушень системи оксиду азоту у легенях в процесі формування експериментального пародонтиту асоційованого з експериментальним алергічним альвеолітом...	67
3.4 Вплив препарату L-аргініну на змінені маркери системи оксиду азоту в легенях за умов розвитку ЕП і ЕАА	70
Розділ 4 Роль змінених показників прооксидантної і антиоксидантної систем в легенях в механізмах розвитку експериментального пародонтиту та алергічного альвеоліту та корекція їх L-аргініном.....	
4.1 Особливості змін стану прооксидантної і антиоксидантної систем в легенях за умов формування експериментального алергічного альвеоліту	75
4.2 Стан перекисного окиснення ліпідів і антиоксидантної системи в легенях за умов розвитку експериментального пародонтиту.....	79
4.3 Порушення процесів ліпопероксидації і антиоксидантної	83

системи в легенях при експериментальному алергічному альвеоліту асоційованого з експериментальним пародонтитом.....	
4.4 Вплив L-аргініну на рівень ДК і МДА та активність ферментів (СОД, КТ, ЦП) легенях тварин при експериментальному алергічному альвеоліті та експериментальному пародонтиті.....	88
Розділ 5 Стан цитокінового статусу за умов формування експериментального алергічного альвеоліту і експериментального пародонтиту та корекція їх порушень L-аргініном.....	93
5.1 Рівень прозапальних і протизапальних цитокінів у крові в динаміці розвитку ЕАА.....	93
5.2 Рівень цитокінів у сироватці крові морських свинок в різні періоди розвитку експериментального пародонтиту	96
5.3 Рівень цитокінів у крові в динаміці розвитку поєданого ЕАА і ЕП.....	99
5.4 Вплив L-аргініну на рівень цитокінів у крові при ЕАА і ЕП.....	102
Розділ 6 Особливості змін імунної системи за умов розвитку експериментального алергічного альвеоліту і пародонтиту та корекція їх L-аргініном.....	105
6.1 Роль імунної системи у формуванні експериментального алергічного альвеоліту.....	105
6.2 Стан імунного гомеостазу за умов розвитку експериментального пародонтиту	108
6.3 Стан імунної системи при поєднанні ЕАА і ЕП.....	111
6.4 Коригуючий вплив L-аргініну на порушені показники імунної системи при ЕАА асоційованого з ЕП.....	114
Розділ 7 Аналіз та узагальнення результатів дослідження.....	119

Висновки.....	140
Рекомендації щодо наукового і практичного використання здобутих результатів.....	142
Список використаних джерел.....	143
Додатки.....	165

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

- АА –алергічний альвеоліт
АОЗ – антиоксидантний захист
АОС – антиоксидантна система
БПЛ – бронхоальвеолярний лаваж
БАР – біологічно активні речовини
ВРО – вільнорадикальне окиснення
ГП – гострий пародонтит
ДК – дієнові кон'югати
ЕАА – експериментальний алергічний альвеоліт
ЕМХ – експериментальна модель хвороби
ЕП – експериментальний пародонтит
ІЛ - інтерлейкін
КТ - каталаза
КП – коморбідна патологія
МДА – малоновий діальдегід
ПОЛ – перекисне окиснення ліпідів
СОД – супероксиддисмутаза
ФНП – фактор некрозу пухлин
ЦК – циркулюючі імунні комплекси
L-arg–L-аргінін
ІЛ-10 – інтерлейкін-10
ІЛ-6 – інтерлейкін-6
NO – оксид азоту
NOS – сумарна активність синтаз оксиду азоту
ХП – хронічний пародонтит
ЦП – церулоплазмін

ВСТУП

Актуальність теми. Проблема патогенезу, діагностики та лікування екзогенного алергічного альвеоліту (ЕАА) є актуальною, гострою і потребує проведення додаткових, як клінічних так і експериментальних досліджень, тому, що це захворювання може перебігати під маскою гострих респіраторних вірусних інфекцій, грипу, гострого і хронічного бронхіту, пневмонії, саркоїдозу, туберкульозу легень, зумовлює цілий ряд ускладнень (пневмосклероз, емфізема легень, легеневе серце, дихальну і серцеву недостатність, тощо), спричиняє періоди непрацездатності, інвалідність і навіть смерть та має соціально-економічне і медичне значення [36, 41, 94, 78, 86, 133, 139].

Гострі, підгострі та хронічні форми екзогенного алергічного альвеоліту становлять від 2,3 до 5% від числа бронхолегеневих захворювань і перманентно кількість видів цієї патології зростає [75, 78, 94, 180]. На сьогодні розповсюдженість цього захворювання складає близько 42 випадки на 100 тис. населення і залежить від численних факторів (професії, побутових умов, географічних зон), серед яких 80% хвороби є особи працездатного віку [94, 140].

Захворювання пародонта запального характеру є дуже розповсюдженими і спостерігаються за даними різних науковців у 75%-90% у практичній роботі стоматолога не лише в Україні, але й у світі [11, 12, 23, 27, 47, 100, 157]. Хронічні пародонтити не лише за масштабністю поширення, але і за втратою великої кількості зубів, появою вогнищ хронічної інфекції, зниженням реактивності організму, спричиняються до розвитку насамперед хвороб органів травлення, служать антигенними чинниками для формування

алергічних захворювань та складають загальну медичну і соціальну проблему [20, 27, 29, 47, 83, 126, 128, 151].

У даний час відомі причини, як ЕАА так і пародонтитів, проте механізми їх розвитку до кінця не з'ясовані, особливо це стосується їх поєднаного перебігу.

У цьому зв'язку питання, що стосуються, коморбідної патології, як в Україні так і в світі є гострим тому, що вона може змінювати фізіологічні процеси в організмі, знижувати його адаптаційні можливості, посилювати розвиток різноманітних ускладнень, знижувати ефективність лікування, затруднювати їх діагностику, погіршувати перебіг та прогноз основного захворювання [15, 17, 42, 50, 78]. Тому вивчення патогенезу, удосконалення діагностики і лікування захворювань запального і алергічного характеру, а саме екзогенного алергічного альвеоліту і пародонтиту є важливою проблемою з огляду на те, що, на даний час, не до кінця є вивчені питання щодо ролі і участі патофізіологічних особливостей змін цитокінового статусу, стану клітинної і гуморальної імунної відповіді, системи оксиду азоту, перекисного окислення ліпідів і антиоксидантної системи в механізмах їх розвитку окремо та в їх поєднанні до та після використання L-аргініну.

У цьому контексті, проблема експериментального алергічного альвеоліту асоційованого з пародонтитом є гострою, актуальною та потребує проведення подальших, як експериментальних так і клінічних досліджень.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертація є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи кафедри патологічної фізіології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького «Роль метаболічних та імунних порушень алергічних і запальних процесів, стресу і адреналінового пошкодження міокарда та їх патогенетична терапія» (№ державної реєстрації 0120U105779). Дисертантка є співвиконавицею теми.

Мета дослідження: з'ясувати роль порушень показників системи оксиду азоту, цитокінового статусу, імунної системи, процесів ліпопероксидації

і антиоксидантного захисту в механізмах розвитку експериментального алергічного альвеоліту і пародонтиту та визначити коригуючий вплив на змінені показники препарату L-аргініну.

Завдання дослідження:

1. Дослідити патофізіологічні особливості змін показників системи оксиду азоту в легенях у патогенезі експериментального алергічного альвеоліту і пародонтиту.

2. Оцінити роль маркерів цитокінового статусу в механізмах формування експериментального алергічного альвеоліту і пародонтиту.

3. З'ясувати особливості порушень прооксидантної і антиоксидантної системи в динаміці перебігу цієї коморбідної патології.

4. Вивчити зміни показників клітинної та гуморальної ланок імунітету та їх участь в механізмах розвитку експериментального алергічного альвеоліту асоційованого з пародонтитом.

5. Патогенетично обґрунтувати доцільність використання L-аргініну за умов формування експериментального алергічного альвеоліту поєданого з пародонтитом.

Об'єкт дослідження: експериментальний алергічний альвеоліт та експериментальний пародонтит.

Предмет дослідження: показники системи оксиду азоту, перекисного окиснення ліпідів і антиоксидантного захисту, цитокінового статусу, імунної системи в крові і легенях морських свинок з експериментальним алергічним альвеолітом та пародонтитом до та після використання L-аргініну.

Методи дослідження:

- біохімічні (визначення в легенях показників малонового діальдегіду, дієнових кон'югатів, активності супероксиддисмутази, каталази, церулоплазміну, стабільних метаболітів оксиду азоту, сумарної активності NO синтази, L-аргініну);

- імунологічні (визначення вмісту Т і В-лімфоцитів, циркулюючих імунних комплексів в крові);
- імуноферментні (визначення про – і протизапальних цитокінів в крові).
- математичні: опрацювання цифрових результатів дослідження методом варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента.

Наукова новизна отриманих результатів. Уперше з'ясовані патофізіологічні особливості змін системи оксиду азоту, процесів ліпопероксидації та антиоксидантного захисту, цитокінового профілю, гуморального та клітинного імунітету в крові і легенях та доведена їх роль та активна участь в механізмах розвитку експериментального алергічного альвеоліту поєданого з експериментальним пародонтитом.

Уперше встановлено, що експериментальний алергічний альвеоліт асоційований з експериментальним пародонтитом в динаміці моделювання зумовлює значні порушення в системі оксиду азоту, які проявляються послідовним підвищенням вмісту стабільних метаболітів оксиду азоту та сумарної активності NO синтаз та зниженням рівня L-аргініну в гомогенаті легень з досягненням максимальних величин на 14-у і 24-у доби експерименту.

Уперше виявлено, що в динаміці розвитку експериментального алергічного альвеоліту поєданого з пародонтитом відбувається поетапне посилення процесів ліпопероксидації на тлі виснаження, як ферментативної так і неферментативної ланок антиоксидантного захисту з розвитком оксидантного стресу з перевагою на 14-у і 24-у доби експерименту.

Уперше показано, що асоційований експериментальний алергічний альвеоліт з пародонтитом супроводжується помітним дисбалансом цитокінів, а саме підвищенням прозапальних цитокінів на тлі зниження протизапального цитокіну, як у ранній так у пізній їх періоди розвитку з найбільшим ступенем вираження на 24-у добу експерименту.

Уперше визначено, що впродовж усіх етапів розвитку експериментального алергічного альвеоліту і пародонтиту спостерігалось порушення імунної системи, яке супроводжувалося депресією клітинної ланки

імунітету на фоні активації гуморальної імунної відповіді з максимальними проявами на 14-у і 24-у доби експерименту.

Уперше доведено, антиоксидантну, імунно- і цитокінкоригуючу дію L-аргініну на порушені показники метаболічних і імунних процесів за умов розвитку поєданого алергічного альвеоліту і пародонтиту.

Практичне значення отриманих результатів. Отримані результати досліджень поглиблюють і розширюють сучасні уявлення про механізми розвитку експериментального алергічного альвеоліту і експериментального пародонтиту і можуть бути використані в подальшій науково-дослідній та педагогічній роботі. Доведена антиоксидантна та цитокіно- і імунокоригуюча дія L-аргініну вказує на перспективність і доцільність їх подальшого дослідження і вивчення в експерименті так і в клініці (пульмонології, алергології, стоматології) з метою корекції порушень метаболічних та імунних процесів за умов розвитку експериментального алергічного альвеоліту і пародонтиту та розробки методичних вказівок.

Результати дослідження впроваджені в навчальний процес на кафедрі патологічної фізіології Івано-Франківського національного медичного університету, Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського, Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, ВДНЗ України “Буковинський державний медичний університет”, кафедрі анатомії, фізіології та патології Львівського медичного університету, що підтверджено актами впровадження.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є повністю самостійним науковим дослідженням здобувачки. Дисертантка особисто провела аналіз літературних джерел, інформаційний пошук, розробила алгоритм досліджень. Особисто моделювала експериментальний алергічний альвеоліт і експериментальний пародонтит, проводила експериментальні дослідження і статистичне опрацювання отриманих даних. Написано і оформлено дисертацію. Разом з науковим керівником сформульовано висновки. Під час написання роботи авторка не використовувала раніше опублікованих

матеріалів співавторів наукових публікацій за темою дисертаційного дослідження. У наукових працях, які опубліковано у співавторстві, дисертація 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: XIII Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання патології за умови дії надзвичайних факторів на організм» (Тернопіль, 2022), VII міжнародній науково-практичній конференції «Modernresearchinworldscience»(Львів, 2022).

Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи надруковано сім наукових праць. З них чотири статті у наукових фахових виданнях України, одна в іноземних періодичних виданнях, дві публікацій у матеріалах міжнародних науково-практичних конференціях.

Обсяг та структура дисертації. Дисертаційна робота викладена українською мовою на 172 сторінках комп'ютерного тексту (основний обсяг становить 119 сторінок), складається з вступу, огляду літератури, розділу з описом матеріалів та методів, чотирьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних джерел (всього 190 джерел, з них 63 іноземних), додатків. Робота ілюстрована 52 таблицями, 16 рисунками.

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО ПАТОГЕНЕЗ, ДІАГНОСТИКУ ТА ЛІКУВАННЯ ЕКЗОГЕННОГО АЛЕРГІЧНОГО АЛЬВЕОЛІТУ, ЕТИОЛОГІЮ І ПАТОГЕНЕЗ ПАРОДОНТИТІВ. ХАРАКТЕРИСТИКА ДОСЛІДЖУВАНОВОГО ЛІКАРСЬКОГО СЕРЕДНИКА (L-АРГІНІНУ)

1.1. Патогенез, діагностика та лікування екзогенного алергічного альвеоліту

За останні десятиріччя ріст алергічних захворювань помітно зростає серед яких значну питому вагу складає ЕАА. Це пояснюється, очевидно розвитком науково-технічного прогресу, хімічної і фармацевтичної промисловості, широким застосуванням ліків пацієнтами, стресами, забрудненням оточуючого середовища. Властиво ці чинники та інші сприяють формування екзогенного АА [25, 38, 53, 61, 81, 94].

Етіологічними факторами розвитку ЕАА є: пил рослинного та тваринного походження, білкові антигени (пташиний кал, пір'я), харчові антигени (борошно, сир, солодоці), медикаменти (антибіотики, ферменти, солі золота, інсектициди), мікроорганізми (термофільні актиноміцети, гриби, найпростіші) [39, 40, 43, 52, 64, 94, 131, 136].

На сьогодні екзогенний алергічний альвеоліт (ЕАА) розглядається, як імунно-алергічне захворювання, яке зумовлене інгаляцією дрібнодисперсних частин органічного пилу, що характеризується дифузним ураженням альвеол та термінальних бронхіол [41, 42, 51, 60, 63, 94]. Пусковим механізмом розвитку АА є гіперчутливість третього типу алергічних реакцій, що проходять трьома стадіями, а саме імунологічної, біохімічної і патофізіологічної, або стадію функціональних і структурних порушень.

Початкова (імунологічна) стадія імунокомплексного механізму пошкодження тканин полягає у тому, що у відповідь на потрапляння антигену в організмі утворюються антитіла (IgG, IgM). Їх взаємодія відбувається в крові і міжклітинній рідині [65, 67, 94, 124]. Ці антитіла мають здатність при контакті з антигеном утворювати преципітати, які називають імунними комплексами. Здебільшого високий рівень преципітуючих IgG та IgM виявляється на 5-7 добу після появи антигену в організмі, а хвороби, в патогенезі яких вони відіграють помітну роль, називаються імунокомплексними.

У залежності від співвідношення антигену і антитіл виділяють такі види імунних комплексів [104, 124, 131]: великі комплекси – утворюються в надлишку антитіл, які швидко видаляються з кровотоку макрофагами, тому не мають патогенної дії; преципітовані комплекси – утворюються в еквівалентних співвідношеннях антигену і антитіл, що швидко видаляються з кровотоку і тому пошкодження не викликають; невеликі комплекси – утворюються у великому надлишку антигену або у разі одновалентних антигенів, які циркулюють в організмі тривалий час і мають слабку пошкоджувальну дію та комплекси проміжної величини, утворюються в невеликому надлишку антигену. Їх середня молекулярна маса складає 900 тис. – 1 млн дальтон. Власне ці комплекси є причиною розвитку алергічних реакцій III типу [131, 137]. Здебільшого ІК фагоцитуються та метаболізуються без шкідливих для організму наслідків і можуть відкладатися в стінках альвеол та дрібних бронхіолах та зумовлювати запалення, яке проявляється у вигляді бронхіоліту та альвеоліту [75, 78, 79, 81, 124].

Відомо, що імунні комплекси (ІК) – це високомолекулярні білкові конгломерати, які утворюються при специфічній взаємодії АГ з АТ і здатні активувати систему комплементу класичним шляхом. ІК в організмі людини виявляються, як в нормі (у малих кількостях і швидко катаболізуються печінкою, меншою мірою – нирками, легеньями, селезінкою), так і за умов патології, коли вони включаються у роботу ефektorних ланок імунної відповіді [101, 103]. Тому за цих умов їх дія значною мірою залежить від співвідношення

АГ і АТ в комплексах. За умови домінування АТ чи незначному переважанні АГ (достатній синтез АТ; ІК великих і середніх розмірів) комплекси швидко преципітують і концентруються у місці проникнення антигену (збудника) в організм, активізуючи макрофаги і місцевий запальний процес [103, 104]. У разі домінування АГ у складі ІК (недостатній синтез АТ; ІК малих розмірів), то утворюються розчинні сполуки, здатні тривало циркулювати у крові аж до відкладання в судинах нирок, шкіри тощо. Унаслідок звільнення протеолітичних ферментів, анафілатоксинів, лейкотрієнів, полікатіонних білків, активація кінінової системи може викликати пошкодження власних тканин (імунокомплексне запалення). Саме такий механізм є характерним для розвитку альвеолітів, сироваткової хвороби, гломерулонефритів, артеріїтів [81, 101].

Зміни фізіологічної елімінації ІК може бути наслідком не тільки співвідношення АГ-АТ, але і значної кількості АГ. Контакт організму з надлишком АГ відбувається в численних випадках: у випадку персистентних затяжних інфекцій (туберкульоз, хламідіоз) у результаті дефектів імунної відповіді, організм не здатний зв'язувати їх за допомогою АТ; швидким звільненням великої кількості АГ після масивної дози етіотропного засобу (вузликова еритема після застосування дапсону у хворих на лепру, реакція Яриша-Герцхаймера на першу дозу антибіотика у хворих на сифіліс); автоімунореактивність до компонентів власного організму, що має місце при колагенозах [101, 104, 120, 147].

До аналогічних наслідків можуть призводити й інші чинники: дефіцит компонентів комплементу, в першу чергу С3 (системний червоний вовчак); недостатність фагоцитарної системи або її фізіологічне перевантаження (наприклад, при зловживанні інфузіями високомолекулярних поліелектролітів); захворювання печінки, внаслідок чого зменшується катаболізм ІК. ЦіК, як відомо, можуть виконувати захисну функцію в організмі, а за певних умов, які описані нижче, стають патогенними залежно від: структурних і функціональних властивостей комплексів антиген + антитіло, а саме розмірами комплексів і їх структурою; місця утворення комплексів;

тривалості циркуляції імунних комплексів в організмі; Для формування імунокомплексних пошкоджень сприятливими факторами є: зрушення комплементарної системи; умови, при яких швидкість утворення імунних комплексів значно перевищує швидкість їх елімінації; функціональні дефекти системи мононуклеарних фагоцитів [94].

У нормі елімінація імунних комплексів відбувається за участю комплементу і макрофагів. У капілярах тканин організму, де активують систему комплементу, затримуються комплекси, що не видаляються з кровотоку, викликають притік лейкоцитів, активізацію і позаклітинне вивільнення ферментів [71, 72, 73]. У результаті цього порушується мікроциркуляція і розвивається вторинне ураження тканин, в яких є фіксований імунний комплекс, аж до формування некрозу.

Другою стадією називається біохімічна стадія алергії, що починається з виділення в кров медіаторів алергії. Активізуються біохімічні системи плазми крові: система комплементу, ПОЛ, калікреїн-кінінова система, система згортання крові. Стимуляція двох останніх пов'язана з пошкодженням імунними комплексами судинної стінки, що призводить до активації фактора Хагемана [66, 67, 69, 70, 147, 154, 159, 180].

В алергічних реакціях III типу важливу роль відіграють серотонін, гістамін, які містяться в базофілах, тромбоцитах крові, що активізуються за допомогою C3a- і C5a-компонентів комплементу. У цілому, після взаємодії з антигеном, антигенпрезентуючі клітини в зоні ураження продовжують продукувати *IFN- γ* , *IL-1*, *IL-6*, *IL-8*, *IL-12*, *TNF- α* , що проявляють себе відповідними ефектами [162, 184]. Разом з тим одночасно в процес утворення цитокінів залучається величезна кількість імунних клітин. Це зумовлює подальше прогресування патогенезу [85, 86, 87, 129, 154, 155].

Відомо, що основними принципами дії *TNF- α* є і збільшення цитотоксичної дії ЛАК- та НК-клітин стосовно інфікованих вірусом та пухлинних клітин, активація макрофагів та інших антигенпрезентуючих клітин, Т- та В-лімфоцитів; сприяння утворенню активних форм кисню, азоту, супероксид-

аніону; цитотоксична дія внаслідок мітохондріальної дисфункції та руйнування ДНК; запуск апоптозу через гомологію з *Fas*-лігандом; розпізнавання пухлинних клітин ефекторними через стимулювання експресії молекул головного комплексу гістосумісності I типу на їх поверхні; поява молекул адгезії (E-селектинів та імуноглобуліноподібних молекул *ICAM-1*, *ICAM-2*, *VCAM*) на поверхні ендотеліоцитів посткапілярних венул; активація циклооксигеназного та ліпооксигеназного шляхів метаболізму арахідонової кислоти з наступним синтезом простагландинів, що разом з лейкотрієнами та простациклінами зумовлюють розширення артерійол, підвищення проникності венул, збільшення кровотоку в ділянці формування імуно-запального процесу [81, 87, 88, 163].

За умови розвитку АА його дія полягає в запуску продукції IFN- γ , IL-1, IL-6, IL-8, зростанні хемотаксису моноцитів, стимулюванні проліферації та диференціюванні мононуклеарних клітин та Т-лімфоцитів, реалізації відповідно оборотної та необоротної адгезії лейкоцитів до судинної стінки шляхом підвищення синтезу в ендотеліоцитах E-селектинів та білків сімейства імуноглобулінів, стимуляції колагеназ з подальшим розщепленням компонентів інтерстицію, а також у запуску апоптозу пошкоджених клітин легеневої тканини [81, 87, 88, 129, 164].

IL-1, відомий як фактор активації лімфоцитів, лейкоцитарний ендогенний медіатор, катаболін, ендогенний піроген, гемопоетин 1, фактор активації остеокластів, являє собою надродину з одинадцяти подібних за структурою білків, молекулярною масою приблизно 17-18 кДа [85, 129]. Ці цитокіни викликають посилення продукування хемоатрактантів, таких як IL-8, CXС- і ССL-хемокіни, проліферацію Т- і В-лімфоцитів, фібробластів з наступним синтезом ними колагену, збільшення продукції простагландинів, в тому числі — простагландину E2, що відіграє визначну роль у розвитку гарячки, проліферації клітин мієлоїдного паростка, утворення активних форм кисню та оксиду азоту, стимуляції НК-клітин, дозрівання та диференціювання моноцитів/макрофагів, збільшення експресії імуноглобуліноподібних рецепторів на поверхні

ендотеліоцитів, що має значення для необоротної адгезії лейкоцитів з подальшим надходженням в легеневу тканину, стимулювання вироблення *IL-12* та *IFN-γ* *T*-лімфоцитами та НК-клітинами, що призводить до диференціювання Th0 в Th1, одночасно активуючи Th2, базофіли, еозинофіли, що разом забезпечують розвиток алергічних реакцій як IV, так і III типу [85, 86].

IL-6, як прозапальний цитокін є «цитотоксичним фактором диференціювання T-клітин», це зумовлює проліферацію тимусних та периферичних T-клітин, стимулювання T-хелперів та НК-клітин, утворення T-хелперами IL-2, проліферації і диференціювання T-клітин у цитотоксичні, формування CD4⁺ в напрямку Th17 з порушенням імунологічної толерантності та імунозапальних патологій [85, 86, 129]; IL-6 є «B-клітинний стимулюючий фактор» — здатність викликати дозрівання і диференціювання B-лімфоцитів в плазмоцити, продукцію ними антитіл з утворенням імунних комплексів [87].

Відкладанню імунних комплексів сприяє підвищена проникність судинної стінки, яка виникає у разі включення реакінового (I типу) алергічного механізму. З базофілів виділяються БАР [39, 40, 43, 94, 129, 130]. З них найважливішу роль відіграють речовини, які виділяються з тромбоцитів під дією тромбоцитаактивуючого фактора. Саме тому, вони викликають підвищення судинної проникності і сприяють включенню імунокомплексного механізму пошкодження тканин.

Основному до цих двох механізмів приєднується реакція сповільненого типу, яка супроводжується утворенням гранульом. Це приєднання зумовлене особливостями алергену. В окремих випадках алергени можуть фіксуватись на клітинах легеневої тканини і змінювати їх антигенні властивості. Останнє може викликати включення цитотоксичного механізму (II тип алергічних реакцій) пошкодження тканин [62, 63, 69, 70, 94, 146]. Крім цього активізація комплементу можлива за альтернативним або навіть за класичним шляхом алергенами з деяких грибів, екстрактами з порошку запліснявілого сіна, тютюну та інших джерел.

У патогенезі екзогенного АА важливу роль відіграють клітинно-опосередковані реакції [81]. Нині немає повного уявлення про ступінь та характер участі кожного з імунopatологічних механізмів в розвитку хвороби. Не на достатньому рівні вивчені питання місцевої імунopatології, що також має суттєве значення в механізмах екзогенного АА, через те, що проникнення етіологічного агенту відбувається через респіраторний тракт, і реакція легень в багатьох випадках буде визначати початок та подальший розвиток хвороби. Встановлено, що розвиток хронічного екзогенного АА зумовлений клітинно-опосередкованими механізмами, де найбільшу роль відіграють місцеві процеси, а не системні реакції. Місцеві зміни в прикореневих лімфовузлах легень не співпадають з такими в периферичній крові. У патогенезі цього захворювання важливе значення має вивчення локального легеневого імунітету [62, 63, 64, 70, 94]. Участь легень в імунітеті при екзогенному АА доведено за допомогою дослідження бронхолегеневого лаважу. Суттєву роль в розумінні патогенезу екзогенного АА відіграє наявність бактеріальної флори в харкотинні хворих на екзогенний АА [56, 94]. Відомо, що при екзогенному АА розвивається недостатність Т-лімфоцитів і порушується склад тканинних ферментів в легеневій тканині.

У формуванні патології „легенів пташника” беруть участь неспецифічні і специфічні механізми пошкодження та захисту організму.

Було виявлено, що зростає вміст імуноглобулінів М, G, E в крові у хворих на екзогенний алергічний альвеоліт як при гострій, так і при хронічній формах захворювання, що свідчить про інтенсифікацію утворення антитіл, стимуляцію гуморального імунітету, а також про важливу роль гуморальних механізмів імунітету в генезі даного легеневого захворювання [94].

Було встановлено, що у пацієнтів з хронічною формою АА, які працювали на птахофабриці з тривалістю контакту з птицею від 2 до 40 років, зниження в сироватці крові імуноглобулінів А, натомість рівень Ig G і М не відрізнявся від здорових осіб [81, 94]. Показано, що в пташників зі стажем роботи на птахофабриці 5-9 років підвищується рівень циркулюючих імунних

комплексів в 50 % пташників, зростає вміст імуноглобулінів А, G, знижується лізоцимна активність та кількість Т-клітин в сироватці крові [72].

Науковими працями встановлено зниження кількості теофілінчутливих та теофілінрезистентних субпопуляцій Т-лімфоцитів у пацієнтів з екзогенним АА, що свідчить про зниження активності клітинної ланки імунної відповіді [71, 72, 81]. Також виявлено, що показники В-лімфоцитів у хворих з гострою формою екзогенного АА, а також у пташників з факторами ризику, з преморбідним станом і у робітників птахофабрики, які контактують з алергенами, не змінювалися порівняно з контрольною групою. У хворих зі стажом роботи на птахофабриці 1-5 років доведено, що відбувалося зниження комплементарної активності сироватки крові, що свідчить про пригнічення захисних властивостей крові і організму в цілому. КАСК у хворих за умов стажу роботи 6-10 років і 11-15 років зазнала зворотних змін. Даний маркер, навпаки, підвищувався, що, очевидно, вказує на стимуляцію біологічної функції комплементу та його компенсаторних властивостей[94].

В окремих наукових працях показано порушення деяких показників білкового обміну за умов розвитку експериментального алергічного альвеоліту.

Доведено, що пізній період (54-а, 64-а доби) АА викликає більш суттєві порушення білковоутворюючої функції печінки (зниження концентрації загального білка, альбумінів та зростання α_1 , α_2 , β і γ -глобулінів), протеїназо-інгібіторної системи (активізація протеолітичної активності та зниження α_1 -інгібітора протеаз і α_2 -макроглобуліну), показників гострофазових білків (підвищення С-реактивного протеїну, фібриногену крові) [81, 94].

Експериментальними дослідженнями показано, що при алергічному альвеоліті відбувається участь процесів прооксидантних і антиоксидантних систем в крові, у легеневій та печінковій тканинах у морських свинок в патогенезі цього легеневого захворювання[41, 51]. Зокрема, у роботі виявлено поступове зростання продуктів ПОЛ (ДК, МДА, СОД і каталази) в крові в ранній і пізній періоди розвитку захворювання, також підвищення активності ферментів АОС, особливо на 30-у добу експериментального алергічного

альвеоліту, та їх суттєве зниження у пізній період формування даного легеневого захворювання з формуванням оксидантного стресу [41, 42, 51, 52, 66, 75, 94]. Ряд науковців встановили важливу роль в патогенезі розвитку ЕАА відіграють порушення про- і АОЗ, а саме зростання процесів ліпопероксидації на тлі зниження ферментів антиоксидантного захисту (СОД, КТ) в крові і легенях в експерименті [38, 39, 40, 61, 62].

Також виявлено порушення рівноваги протеїназно-інгібіторної системи в легенях і крові за умов формування експериментального АА, зокрема показано, підвищення процесів протеолізу в умовах депресії інгібіторного потенціалу та їх суттєве значення для механізмів формування цієї експериментальної моделі хвороб [64, 67].

Окремі автори з'ясували, що провідну роль в патогенезі розвитку АА в експерименті відіграють порушення цитокінового статусу в крові – зростання рівня ФНП-а і ІЛ-6 на тлі зниження вмісту ІЛ-10, а також зміни показників системи оксиду азоту (підвищення рівня стабільних метаболітів NO і сумарної активності NOS в умовах зниження вмісту L-аргініну в крові і легенях [84, 85, 86, 87, 88].

Окремими науковими роботами показано, що в патогенезі експериментального алергічного альвеоліту важливу роль відіграють порушення показників гуморального та клітинного імунітету і неспецифічної резистентності організму морських свинок, і доведено їх пряму участь в патогенетичних механізмах формування цього імунокомплексного захворювання [72, 81, 94].

Третя стадія, яка носить назву патофізіологічна, полягає у тому, що на 10-14-у добу у зв'язку з пошкодженням тканин під впливом імунних комплексів і розвитком гострого запалення, з'являються клінічні ознаки АА. Виникає набряк тканин внаслідок підвищення проникності стінок судин і сприяє проникненню імунних комплексів середнього і малого розміру з крові у тканини, у тому числі – в стінки судин з розвитком васкулітів [81, 94].

Створюються умови для тромбоутворення в результаті активізації проагрегантів і прокоагулянтів, порушення мікроциркуляції, ішемії тканин, розвитку в них дистрофії і некрозу (наприклад, феномен Артюса, синдром дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові) [81, 161]. Відомо, що утворення преципітатів сприяє порушенню мікроциркуляції з розвитком некрозу. Крім того, фіксація імунних комплексів через Fc-рецептори на поверхні нейтрофілів, тромбоцитів зумовлює поглинання і руйнування даних клітин макрофагами.

Підсумовуючи вищенаведене можна стверджувати, що патогенетичні особливості розвитку екзогенного алергічного альвеоліту до кінця не вивчені. Доцільно підкреслити, що найважливіше місце в патогенезі цього захворювання має імунотоксичний механізм пошкодження тканин, а згодом можуть включатися в алергічний процес I, II і IV типи алергічних реакцій.

Діагностика гострого перебігу альвеоліту складається з анамнестичних даних (контакт з алергеном), клінічної картини та результатів лабораторного і рентгенологічного дослідження легень, постановки внутрішньошкірних проб, проведення провокаційних інгаляційних тестів та врахування результатів серологічного та імунологічного досліджень, комп'ютерної томографії легень [56, 140]. У важких для діагностики випадків цього захворювання дуже рідко рекомендують проводити відкриту біопсію легень [94]. У даний час виділяють обов'язкові та додаткові діагностичні критерії екзогенного АА [64, 81, 94]. До обов'язкових ознак належать: наявність експозиції (виявлення антигену або його джерела), характерні респіраторні та загальні симптоми, наявність імунологічних показників – преципітини, високий рівень ЦІК (ЕА=РОК), зниження субпопуляцій Т-лімфоцитів-хелперів [63, 75, 94]. Додатковими критеріями є типові зміни, які не можна пояснити іншими захворюваннями [73, 74, 94].

Найголовнішим принципом у лікуванні екзогенного алергічного альвеоліту є попередження подальшого контакту людей з антигеном [69, 81, 94, 171]. Відомо, що не потребують пацієнти медикаментозної терапії, які мають

легкий перебіг захворювання і клінічні ознаки зникають самостійно після припинення контакту з алергеном [64, 69, 70, 94]. Здебільшого призначають глюкокортикоїдні препарати (по 1-1,5 мг преднізолону на 1 кг маси тіла хворого на добу) декілька тижнів з наступним поступовим зменшенням дози аж до повної їх відміни за умови важкого перебігу захворювання [62, 63, 81, 94]. Тривалість лікування кортикостероїдами є винятково індивідуальною та залежить від клінічного ефекту. Також описано позитивний ефект від призначення інталу [71, 72, 94, 176].

Використовують десенсибілізуючі засоби (тавегіл, фенкарол по 1 таблетці 2 рази на добу протягом двох тижнів) з метою підвищення неспецифічної резистентності організму при екзогенному АА [65, 94]. Також рекомендують застосовувати вітамінотерапію, різні адаптогени (елеутерокока, пантокрину) в загальноприйнятих дозах курсами по 3-4 тижні, а також періодичне опромінення ультрафіолетовими променями (кварц) [94]. Доцільно для комплексної терапії включати препарати імуномодулюючої дії (нуклеїнат натрію, теофілін) у зв'язку з виявленими зрушеннями в імунній відповіді організму [62, 63, 65, 81, 115].

Для лікування призначають також бронхолітичні засоби. Одержані позитивні результати лікування екзогенного АА внаслідок застосування гемосорбції, екстракорпоральних методів та оксигенації [94]. Рекомендують для терапії фіброзуючих альвеолітів плазмафорез 3-5 раз на тиждень з одночасним прийомом циклофосфаміду (2-3 мг/кг) та азатиоприну (2 мг/кг) [94].

Пропонують за наявності хронічного АА, який ускладнився фіброзом легень, приймати цитостатичні препарати по 10-20 мг/кг в поєднанні з преднізолоном по 20-40 мг в день [66, 64, 94]. Варто зазначити, що для лікування хворих на екзогенний АА методи специфічної десенсибілізації абсолютно протипоказані [67, 94]. За останні роки було встановлено позитивний коригуючий вплив антиоксидантів (альфа-токоферолу ацетату, тіотриазоліну і корвітину) на показники прооксидантної і антиоксидантної систем в крові, кістковому мозку,

тимусі, селезінці, легенях за умов розвитку алергічного альвеоліту в експерименті [42, 43, 52, 71, 72, 74, 84, 115].

1.2. Етіологія і патогенез пародонтитів

На сьогодні проблема патогенезу і терапії захворювань пародонта не втрачає своєї актуальності та має загально-медичне та соціальне значення, через те, що призводить до ранньої втрати зубів, є вогнищем хронічної інфекції, зниження резистентності організму, розвитку стану сенсibiliзації до мікроорганізмів тощо [11, 12, 13, 14, 15, 80].

Нині пародонтит розглядається, як запалення, що розповсюджується по всіх тканинах пародонту і призводить до запалення сполучної тканини й альвеолярної кістки. Він є однією з найбільш складних проблем сучасної стоматології. Розповсюдженість, тяжкість і швидкість прогресування захворювання відрізняються в різних країнах світу. Здебільшого пародонтит, більш розповсюджений у країнах, що розвиваються, проте хвороба може і не бути поширеною чи не мати тяжкого перебігу серед корінного населення. Україна відноситься до країн зі значною розповсюдженістю захворювань пародонта – залежно від регіону та віку обстежених вона досягає 85–95 % [16, 61, 80, 111, 170].

Відомо, що впродовж життя, в ротовій порожнині зустрічаються до 1000 різновидів мікроорганізмів, але тільки 30 з них розглядаються як умовно-патогенні для тканин пародонта [2, 17, 127, 149].

Здебільшого головними етіологічними агентами вважаються: *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia*, *P. nigrescens*, *P. micros*, *Fusobacterium nucleatum*, *Treponema denticola*, *Filifactor alocis*, *Bacteroidales* sp. HOT 274, *Desulfobulbus* sp. HOT 041, *Fretibacterium* sp. HOT 360, *Fretibacterium* sp. HOT 362, TM7 sp. HOT

356, *Campilobacter rectus*, *Aggregatibacteria ctinomycetemcomitans*, *Bacteroides melaninogenicus*, *Actinomyces viscosus*, *Actinomyces naeslundii* та ін.[174].

У даний час виділяють дві групи факторів ризику щодо розвитку пародонтиту:

До першої групи відносять: гігієна та характер мікрофлори ротової порожнини, паління, стрес, мікроелементози, ішемічна хвороба серця, ожиріння, соматична патологія, соціальний статус. Основну роль серед них належить палінню, наявності певних мікроорганізмів ротової порожнини та ураження серцево-судинної системи. Є дані про підвищений ризик ранньої появи пародонтиту у хворих на ішемічну хворобу серця [11, 12, 18, 180].

До другої групи факторів ризику, на яких ми не можемо вплинути відносять генний поліморфізм гену інтерлейкіну-1, старечий вік, негроїдна та латиноамериканська раси, чоловіча стать. Останні два фактори можуть бути пов'язані з більшою поширеністю серед цих груп населення недостатньою увагою до гігієни ротової порожнини, паління[13, 15, 23, 80, 175].

Бактерії є одним з основних етіологічних факторів розвитку захворювань пародонта, а також продуковані ними екзо- та ендотоксини, що опосередковано та безпосередньо зумовлюють, як такі зміни: збільшення проникливості судинної стінки капілярів, що викликають ексудативні маніфестації запалення; порушення проникливості лізосомальних мембран із виходом лізосомальних гідролаз, здатних пошкоджувати різні клітинні й тканинні компоненти; стимуляція утворення макроергічних сполук у процесах окисного та гліколітичного фосфорилування; активізація виділення медіаторів запалення; модифікація запального субстрату; порушення молекулярної конфігурації тканинних компонентів; цитотоксичну дію, що приводить до стимуляції проліферативної стадії запалення та підсилення запального процесу [18, 23, 131, 142, 144, 152, 161, 165, 187, 188, 190].

Насамперед у разі розвитку пародонтиту з боку організму реагують фібробласти, остеобласти та дендритні клітини слизової оболонки та періодонтальної зв'язки епітеліальні клітини[21, 23, 80, 126].

Фібробласти ясен і періодонтальної зв'язки є основними клітинами сполучної тканини пародонту. Вони продукують ФНП-б, ІЛ-6 і ІЛ-8, макрофагальний запальний білок-1-альфа (MIP)-1- α і фактор стромальних клітин (SDF-1), які є важливими медіаторами запального процесу і метаболізму кісткової тканини. ФНП-б відіграє провідну роль в запальній реакції, резорбції альвеолярної кістки і втраті сполучнотканинного прикріплення [169, 184].

Епітеліальні клітини виділяють інтерлейкін ІЛ-8, фактор хемотаксису нейтрофілів і підвищує адгезію моноцитів в кровоносних судинах. Нейтрофіли, що перемістилися до пародонту, виявляють підвищену продукцію прозапальних цитокінів, таких як інтерлейкін ІЛ-1, ІЛ-6 і фактор некрозу пухлин-б (ФНП-б) [153, 157, 166]. Ці цитокіни є медіаторами деструкції пародонтальних тканин, шляхом стимуляції резорбції кістки [143, 167, 1668, 171, 172].

У імунну відповідь дендритні клітини включаються з моменту подолання бактеріями епітеліального бар'єру. Вони виступають або в ролі антиген-презентуючих клітин або продукують інтерлейкіни ІЛ-12 і ІЛ-18, які сприяють виділенню інтерферону гамма (IFN- γ) НК-лімфоцитами, а пізніше Т-лімфоцитами [134, 141, 155].

Первинну імунну відповідь при пародонтиті переважно пов'язують із ІgM-антитілами, підвищений вміст яких у тканинах пародонту пояснюється їх утворенням епітеліальними клітинами та клітинами запального інфільтрату. У разі переході гострого запалення в хронічне відбувається посилення синтезу та концентрації ІgG в міжклітинному просторі внаслідок переключення частини В-клітин з продукції ІgM на продукцію ІgG. Встановлено, що в слині збільшується концентрація sIgA, ІgA, ІgG, ІgM, підвищений рівень ІЛ-8, ІЛ-1a і знижений вміст ІЛ-4 [80, 126, 127, 156, 157].

За умови розвитку ХП, окрім зміни клітинного інфільтрату з нейтрофільного на змішаний та лімфоцитарний. Це супроводжується зростанням вмісту В-лімфоцитів та зниженням рівня Т-лімфоцитів, також спостерігається збільшення рівня ЦК, який є важливим маркером діагностики

та моніторингу хронічних захворювань. Відомо, що ЦК є патогенними в індукції і підтримці імунозапальних процесів. При гіперергічній реакції відбувається збільшення кількості ЦК, а при гіпоергічній – зменшення, що може бути результатом не стільки зменшення продукції імуноглобулінів В-клітинами, скільки з осіданням ЦК в мікроциркуляторному руслі з проявом патогенетичних властивостей *in situ* [80, 148, 156].

Окремі науковці вважають, що в основі індукції та пролонгації запальних процесів у яснах лежить дисфункція імунної системи. Це призводить до збільшення кількості циркулюючих лейкоцитів унаслідок зниження їх апоптозу. Активуються інфільтровані імунні елементи, які атакують тканини пародонта, і пролонгується їхній життєвий цикл.

Активні нейтрофіли потенційно цитотоксичні для сусідніх клітин, тому що продукують ряд цитокінів, підтримуючи інтенсивність клітинної відповіді на патоген. В результаті домінування продукування прозапальних цитокінів створюється дисбаланс між про- і протизапальним пулом [19, 23, 112].

Група авторів пов'язує пародонтит з такою патологією, як склерозом артеріальної системи пародонта [189]. Вони стверджують, що порушення трофіки пародонта у зв'язку з недостатністю його кровопостачання з наявними склерозованими артеріями та звуженим їх просвітом призводить до зниження місцевого імунітету. Порушення судинного апарату пародонта обумовлені алергічними змінами судин пародонта. До появи пародонтальних кишень, резорбції кісткової тканини альвеолярного паростка насамперед призводить дистрофічні процеси в організмі. Значну роль відводиться неврогенному фактору в патогенезі пародонтиту. Вивчення механізмів порушень у пародонті на молекулярному рівні дає можливість розробити оптимальні заходи щодо їх діагностики, лікування та профілактики [11, 12, 18, 23, 118, 120, 145, 177].

Розвиток запальних хвороб пародонта можна розглядати, як наслідком порушення рівноваги в гомеостазі: центральна нервова, ендокринна та імунна системи [11, 12, 18, 23, 186]. Пошкодження нейрогуморальної регуляції спричиняють зміни білкового й електролітного обмінів, кислотно-лужна

рівновага зрушується в бік метаболічного ацидозу. Дані механізми призводять до зростання кислотності слини, створення умов для демінералізації зубів, підвищення мікробного метаболізму порожнини рота, сенсibilізації організму [11, 12, 22, 23, 80, 138].

Головну ланку патогенезу хвороб пародонта займають запальні медіатори. Одним з основних медіаторів ініціації патологічного процесу в пародонті є інтерлейкін-1 (IL-1), що стимулює вироблення ендотеліальними клітинами адгезивних молекул. Це сприяє прикріпленню поліморфноядерних гранулоцитів і моноцитів, а також мобілізації цих клітин у вогнище запалення, стимулює кісткову резорбцію і затримує утворення колагену і кістки [11, 12, 23, 58, 59, 80].

Відомо, що дерегуляція цитокінів та імуноглобулінів у тканинах пародонта призводить до деструктивних змін. Зростаючий вміст IL-1, IL-6 і TNF- β провокує процеси і біохімічні реакції, які руйнують пародонт. IL-1 і TNF- β активують остеокласти, IL-1 посилює синтез колагеназ, IL-6 активує диференціацію В-клітин на плазматичні клітини з виробленням IgG, який сприяє фіксації комплекменту і виділенню хемотаксичних компонентів. Деякі автори встановили, що у сироватці крові ясен різко пригнічується як б-, так і г-ІНФ-продукування. Це зумовлює вторинний імунодефіцит Т-хелперного і Т-супресорного типів, особливо за активного перебігу пародонтиту [58, 59, 141, 155, 157, 166, 169].

Порушення мікроциркуляції є однією з ланок патогенезу пародонтиту, яке відіграє провідну роль у трофічному забезпеченні тканин. Гемомікроциркуляторні порушення призводять до розвитку в пародонтальних тканинах метаболічних розладів, гіпоксії, дистрофічних та дегенеративних змін [11, 12, 23, 80, 118, 119, 170]. Гіпоксичні стани, що формуються при тривалому перебігу ХОЗЛ, приводять до зрушення в киснево-відновлювальних процесах та трофіці тканин пародонту [18, 19, 22, 80].

Важливу роль у дисфункції ендотелію відіграють порушення метаболізму NO. Зниження продукції NO призводить до спазму судин, активації агрегації

тромбоцитів та їх адгезії на судинних стінках, крайове стояння лейкоцитів, лімфоїдна інфільтрація. Це зумовлює до формування активного запалення. Надлишкове накопичення NO викликає розширення судин. У гладкій м'язовій тканині судин NO здійснює свою дію шляхом активації розчинної гуанілатциклази, зв'язуючись з активним центром гему. Зростання внутрішньоклітинного рівня циклічного гуанозинмонофосфату (цГМФ) забезпечує вазодилатацію та інші регуляторні функції NO [111, 115, 133, 135].

Головними реактивними формами NO, які при надлишковому утворення або вступі в реакцію із супероксидним аніон-радикалом призводять до стану нітрузоактивного та оксидативного стресу, є діазоттриоксид і пероксинітрит. Останній опосередковує цитотоксичні ефекти NO, інгібує функції мітохондральній, є прооксидантом, ушкоджує ліпіди, білки, ДНК [11, 12, 23, 76, 80, 111, 183].

Відомо з літературних джерел, що в патогенезі розвитку захворювання пародонту важливу роль за останнє десятиліття відводять оксиду азоту. NO у людини продукується групою ізоферментів NO-синтаз (NOS), двома конститутивними - нейрональною (nNOS) і ендотеліальною (eNOS), а також індукцибельною (iNOS), кожна з яких має свої особливості як за механізмом дії, так і за біологічним значенням. Індукція iNOS в імунних (макрофагах, нейтрофілах), гладеньком'язових, ендотеліальних і інших клітинах може бути ініційована запальними цитокинами – інтерфероном γ (ІФН- γ), фактором некрозу пухлин (ФНП- α) чи інтерлейкіном-1 (ІЛ-1). Базова функція NO, що продукується iNOS, є участь в імунних процесах, включаючи антипатогенні реакції, протипухлинний захист, відторгнення трансплантата, неспецифічну цитотоксичність та інше [11, 12, 14, 15, 18, 23, 80, 178].

Загальновідомим є факт проте, що при виникненні запальних змін у тканинах пародонта одну з основних ролей відіграє порушення гомеостазу в системі про- та антиоксидантів [20, 21, 22, 23].

Відомо, що розвиток та перебіг захворювань пародонта в великій мірі залежить від складу і властивостей слини. Встановлено, що зміни показників

перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та антиоксидантної системи захисту (АОСЗ) у слині є більш чутливими до впливу негативних факторів, ніж аналогічні показники крові. Система ПОЛ-АОЗ слини суттєво впливають на стан місцевого гемостазу та фібринолізу, на місцевий імунітет і неспецифічну резистентність органів порожнини рота. За останні десятиліття помітна увага дослідників приділяється вивченню окисної модифікації білків (ОМБ) під впливом активних форм кисню [20, 21, 80, 105, 114, 122, 127, 167]. Окиснення амінокислот у складі білків спричиняє їх структурні зміни, які проявляються фрагментацією, агрегацією, а також підвищеною чутливістю до протеолізу. Відомо, що окисна деструкція білків є одним з перших показників пошкодження тканини. Разом з тим ряд літературних джерел вказують на те, що внаслідок особливостей структурної організації білків процес ОМБ має складний та специфічний характер, який супроводжується порушенням як первинної, вторинної так і третинної структури. Суттєвим наслідком посилення ПОЛ та ОМБ, з огляду на біологічний ефект, є взаємодія активних форм кисню з ДНК. Насьогодні ідентифіковано близько 100 варіантів ушкодження ДНК вільними радикалами та модифікацій пентоз і азотистих основ [11, 12, 18, 20, 118, 119, 120, 121].

Одним з важливих досягнень науки є визначення протеолізу як особливої форми фізіологічної регуляції функцій організму. Регуляторна роль протеолітичних ферментів здійснюється у двох формах: повного чи обмеженого протеолізу. Об'єктивна оцінка системи протеолізу можлива лише за умов урахування загальної протеолітичної активності досліджуваного субстрату та активності інгібіторів протеїназ, які гальмують протеолітичні ферменти. Їх співвідношення визначається як протеїназно-інгібіторний потенціал. Загально відомо, що за умов формування запального процесу в організмі і в тому числі при пародонтиті відбувається порушення рівноваги між протеїназною системою та інгібіторним потенціалом, а саме прогресування протеолізу на тлі депресії активності антиоксидантної системи [22, 23, 64, 67, 80, 98, 100]. Це спричиняє вплив на процеси ліпопероксидації, виділення БАР,

цитокінів, імунний статус. Виявлено, що в усіх пацієнтів до лікування хронічного генералізованого пародонтиту в ротовій рідині вірогідно зростала загальна протеолітична активність на тлі зменшення загальної антитриптичної активності. Таким чином, за умов розвитку хронічного генералізованого пародонтиту відбувається дисбаланс протеїназно-інгібіторного потенціалу ротової рідини[80, 112, 113, 114, 115, 118].

1.3. Характеристика досліджуваного лікарського середника L- аргініну

Для лікування тварин з поєднаними патологіями - ЕАА і ЕП нами був застосований препарат L-аргінін у дозі 150 мг/кг, що виробляється ПрАТ фармацевтична фірма «Дарниця» у місті Львові, який вводили щоденно внутрішньом'язово впродовж 11 днів (з 14-ої по 24-у доби), експерименту.

Відомо, що L-аргінін широко застосовується у практичній охороні здоров'я. Цей препарат має антиоксидантну, органопротекторну, антигіпоксичну, мембраностабілізуючу, гіполіпідемічну, антитромбогенну, бактерицидну, захисну, антирадикальну, дезінтоксикаційну активність, проявляє себе як активний регулятор проміжного обміну і процесів енергозабезпечення, відіграє певну роль у підтриманні гормонального балансу в організмі, покращує циркуляцію [24, 30, 55, 115].

У літературі описано, що аргінін збільшує вміст в крові інсуліну, глюкагону, соматотропного гормону і пролактину, бере участь в синтезі проліну, поліаміну агматину, включається в процеси фібріногеноліза, сперматогенезу, чинить мембранодеполяризуючу дію, покращує мозковий кровообіг, має гепатопротекторну дію [4, 115, 132].

Відомо L-аргінін є умовно незамінною амінокислотою, яка була виділена ще у 1886 році вченими E. Schulze та E. Steiger. Він в організмі людини синтезується з цитруліну (рідше – орнітину та проліну), який продукується клітинами слизової оболонки тонкого кишківника. Трансформація цитруліну на

аргінін відбувається в нирках в межах циклу сечової кислоти. Зазначається, що добовий рівень споживання L-аргініну складає близько 5,4 г – здебільшого тієї кількості амінокислоти, що синтезується клітинами організму, якої вистачає на покриття фізіологічних потреб тканин та органів [24, 30, 55, 115].

В експерименті на мишах було показано, що за умов токсичного набряку легень використання L-аргініну зменшує на 40% летальність [115].

Літературні джерела вказують на те, що в умовах (хвороба стрес, тощо) ендогенні запаси аргініну знижуються, і виникає потреба його додаткового надходження в організм екзогенним шляхом – з їжею та у складі лікарських препаратів [55, 115].

З'ясовано, що аргінін вважається дуже корисною амінокислотою, оскільки бере участь у синтезі білків та багатьох біологічно важливих молекул, є їх необхідним попередником [24, 55, 115].

Відомо, що однією з найважливіших функцій аргініну є здатність бути субстратом для синтезу оксиду азоту. Останній утворюється з L-аргініну під впливом ферментів NO-синтаз (NOS). У даний час виділяють декілька ізоформ NOS: нейрональна, індуцибельна та ендотеліальна. Аргінін бере активну участь у процесах метаболізму: активує вуглеводний та ліпідний обмін. Відома його роль у зменшенні жирової тканини та навпаки – збільшенні м'язової. L-аргінін особливо впливає на серцево-судинну систему, оскільки здатен регулювати тонус судин (їх м'язової стінки), разом з тим, відома його антитромботична та антиатеросклеротична дія, гіпотензивний та антиішемічний ефекти [30, 51, 115]. Таким чином, універсальність цієї амінокислоти та особливості дії на організм підтверджують необхідність підтримання його стабільної концентрації в організмі людини [51, 115, 132, 179].

Численними експериментальними дослідженнями було встановлено [48, 49] на білих щурах, що застосування їм L-аргініну в/м у дозі 150 мг/кг маси впродовж 5 днів (з 1-ої по 5-у доби експерименту) за умов розвитку адреналінового пошкодження міокарда (АПМ) в поєднанні з іммобілізаційним стресом (ІС) призводило до зниження ДК, МДА, МСМ 254, 280 і ЕП,

стабільних метаболітів NO, сумарної активності синтаз NO, АСТ і АЛТ та підвищення рівня L-аргініну, активності ферментів СОД і КТ в крові та міокарді, що свідчило про його антиоксидантний та дезінтоксикаційний вплив на порушені показники метаболічних процесів.

Шляхом проведення мети-аналізу, було вивчено результати 13 рандомізованих досліджень щодо впливу перорального прийому L-аргініну на функціональний стан ендотелію судин. Усі із 13 досліджень пацієнти з гіперхолестеринемією, стабільною стенокардією, хронічною серцевою недостатністю або хворобами периферичних артерій призначили L-аргінін в дозі 3–24 г на добу протягом періоду від 3 днів до 6 місяців. В результаті детального аналізу даних було виявлено, що навіть нетривалі курси прийому L-аргініну суттєво поліпшують функцію ендотелію, яка характеризувала за посиленням ендотелійзалежної вазодилатації на плечовій артерії – оригінальний фармакологічний препарат широкого спектра дії, який здобув визнання в різних галузях медицини [24, 51, 55, 115].

У 2015 році Jingwen Wang та співавторами проводили дослідження, яке мало на меті вивчити вплив концентрації L-аргініну в крові вагітних жінок на виникнення у них артеріальної гіпертензії [51, 115, 132]. З метою пошуку нових ефективних лікарських засобів для лікування серцево-судинних хвороб з'ясували дію L-аргінін-залежного синтезу NO на розвиток кардіоренального синдрому. Даним дослідженням показано, що існує зв'язок між рівнем L-аргініну та його впливом на синтез NO і розвитком кардіоренального синдрому, це дає нові можливості щодо терапії та профілактики серцевої та ниркової недостатності шляхом впливу на синтез NO [51, 55, 115].

Встановлено, що L-аргінін виявляє гепатопротекторну дію, застосовується для хворих з хронічним гепатитом і цукровим діабетом, попереджує виникнення легеневої гіпертензії [55, 115]

Були проведені дослідження, що вивчали вплив порушення регуляції синтезу NO на депресивний стан у хворих із серцевою недостатністю. Цими результатами дослідження було отримано під час 12-місячного обстеження 104

пацієнтів із серцевою недостатністю, у яких визначали рівень NO-регуляторів (L-аргінін, асиметричний диметиларгінін, симетричний диметиларгінін), показників оксидативного стресу та симптомів депресії [55, 115, 132].

Було встановлено, що низький рівень співвідношення L-аргініну до асиметричного диметиларгініну (L-arginine/ADMA) провокують NO-залежну ендотеліальну дисфункцію та супроводжуються ознаками депресії [51, 55, 115]. Якщо депресивні розлади супроводжують серцево-судинні хвороби, то це сприяє подальшому розвитку серцевої недостатності та погіршує прогноз.

Таким чином ряд сучасних досліджень довели, що L-аргінін спроможний впливати на серцево-судинну систему, проявляючи кардіопротекторні властивості, а також може запобігати виникненню патології серця та судин та поліпшувати якість життя пацієнтів.

Отже підсумовуючи результати огляду літератури, можна стверджувати, що ЕАА і пародонтит є досить поширеними захворюваннями в алергологічних, пульмонологічних, стоматологічних клініках, що призводить до періодів непрацездатності та інвалідності і навіть до смерті. У зв'язку з тим ця патологія має не лише соціальне, але й економічне та медичне значення.

Як видно з вище зазначеного, що на сьогодні недостатньо вивченими є патофізіологічні особливості змін показників процесів ліпопероксидації і АОС, цитокінового статусу, системи оксиду азоту, імунної системи в крові і легенях в динаміці формування цих поєднаних модельованих процесів ЕАА і ЕП у тварин та розробки шляхів їх корекції за допомогою препарату L-аргініну. Тому проведений огляд літератури щодо сучасного стану етіології, патогенезу, діагностики та лікування розвитку екзогенного алергічного альвеоліту і патогенезу пародонтиту підкреслюють актуальність обраної теми та служить необхідністю для проведення подальших, як експериментальних так і клінічних досліджень з метою з'ясування нових раніше не вивчених механізмів їх формування та обґрунтування патогенетичних методів терапії за умов розвитку даних коморбідних станів.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Другий розділ дисертації присвячений відбору тварин та їх розподілу на групи, описанні експериментальні моделі хвороб- алергічного альвеоліту і пародонтиту, одержання гомогенатів легень у тварин, імунологічні, імуноферментні, біохімічні та статистичні методи дослідження.

2.1 Відбір тварин та розподіл їх на групи

У дисертації відповідно до мети і завдань дослідження були проведені та описані усі експериментальні, біохімічні, імунологічні та імуноферментні методи дослідження на морських свинках (самцях). Вони були обрані, тому що є класичним об'єктом для моделювання алергічних і запальних захворювань, а саме експериментального алергічного альвеоліту (ЕАА) та експериментального пародонтиту (ЕП).

Дослідження були проведені на 126 морських свинках (самцях), масою тіла 180-220 г, що утримувалися на стандартному раціоні віварію Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Ці експерименти були проведені з дотриманням принципів біоетики згідно з положенням Європейської конвенції щодо захисту хребетних 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), що підтверджено заключенням членів комісії з біоетики Львівського національного медичного

університету імені Данила Галицького (протокол № 09 від 21 грудня 2020 р.), (протокол №1 від 15 січня 2024р.).

Для раціонального висвітлення отриманих результатів і їх інтерпретації умовно виділяли ранній (4-а і 7-а доби експерименту) та пізній (14-а і 24-а доби) періоди розвитку ЕАА і ЕП.

У науковій роботі відповідно до її мети, морських свинок розподіляли на п'ять груп:

- перша група – (контроль) інтактні тварини (9);
- друга група – морські свинки (36) з ЕАА, поділені на чотири підгрупи (по 9 тварин у кожній) в залежності від термінів виведення з експерименту: на 4-у, 7-у, 14-у і 24-у доби;
- третя група – тварини з ЕП (36), поділені на чотири підгрупи: на 4-у, 7-у, 14-у і 24-у доби експерименту;
- четверта група – морські свинки з ЕАА та ЕП (36), поділені на чотири підгрупи (по 9 тварин у кожній) на 4-у, 7-у, 14-у і 24-у доби експерименту;
- п'ята група - морські свинки з ЕАА та ЕП (9) на 24-у добу експерименту, яким проводили лікування. Застосовували препарат L-аргінін (виробництва ПрАТ Фармацевтична фірма «Дарниця»), який вводили внутрішньом'язово у дозі 150 мг/кг щоденно впродовж 11 днів (з 14-ї по 24-у доби).

Нами були обрані фіксовані доби для проведення експериментальних досліджень і декапітації, що відповідали стадіям розвитку запалення: 4 доба – розвиток хвороби; 7 доба – розпал хвороби; 14 доба – реконвалесценція; 24 доба – репарація та формування ЕАА шляхом імунізації (ведення повного ад'юванта Фрейнда і БЦЖ) тварин на 4-у, 7-у, 14-у і 24-у доби. Тварин виводили з експерименту шляхом декапітації після попереднього ефірного наркозу. Декапітацію проводили інтактним морським свинкам і тваринам на 4, 7, 14, 24-у доби розвитку ЕАА та ЕП до та після лікування L-аргініном під ефірним наркозом і забирали кров, легені для здійснення біохімічних, імунологічних та імуноферментних досліджень.

2.2 Моделювання експериментального алергічного альвеоліту

Експериментальний алергічний альвеоліт відтворювали за методом О. О. Орехова, Ю. А. Кирилова [60], шляхом проведення попередньої імунізації за допомогою внутрішньом'язової ін'єкції 0,2 мл повного ад'юванта Фрейнда з подальшим внутрішньовенним введенням 0,2 мл 1% БЦЖ (бацили Кальмета-Жерена) на 4, 7, 14 та 24 доби дослідження у підгрупах тварин, що не були виведені з експерименту.

2.3. Моделювання експериментального пародонтиту відтворювали за методом Воскресенського О.Н. [9]

Експериментальний пародонтит здійснювали за методом Воскресенського О.Н. [9] з використанням моделі зниженої жувальної функції, згідно якої тварини знаходились на пастоподібному раціоні харчування, з нормою 65 г на добу протягом 24 діб. Модель обрана для відтворення пародонтиту – є класичною моделлю, яка рекомендована для доклінічного дослідження пародонти протекторних властивостей лікарських засобів.

2.4. Метод одержання гомогенатів легень у тварин

У морських свинок забирали шматочки легенів 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, і дрібчасто подрібнювали ножицями. Подрібнену тканину зважували і поміщали у скляний гомогенізатор з тефлоновим пестиком (МРТУ-42 1505-63). Склянку гомогенізатора поміщали 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-НСL 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 [77].

2.5. Імунологічні, імуноферментні та біохімічні методи дослідження

2.5.1 Імунологічні та імуноферментні методи дослідження

Стан клітинного та гуморального імунітету і цитокінів при ЕАА і ЕП характеризували за рівнем в крові Т і В-лімфоцитів, ЦІК та вмістом ФНП- α , ІІ-6 і ІІ-10 у крові в інтактних тварин та в експерименті на 4-у, 7-у, 14-у і 24-у доби розвитку цих моделей хвороб окремо та їх поєднанні до та після лікування L-аргініном.

2.5.1.1 Дослідження вмісту Т-лімфоцитів у крові. Визначення Е-РОК (Т-лімфоцитів) у крові здійснювали за методом Чернушенко Е.Ф., Косогова Л.С [119]. Для цього 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. Протягом 30 хв. пробірки центрифугували при температурі $+20^{\circ}\text{C}$, з інтерфазною силою 400 g (радіус центрифуги виміряли від її центра до межі дотикання суміші філол-гіпак з кров'ю). Використовували нормограми для підрахунку числа обертів. Після центрифугування еритроцити з гранулоцитами осідали на дно, а зверху залишалися мононуклеарні 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.). Кількість клітин підраховували у камері Горяєва і доводили кількість лімфоцитів до 1 млн в 1 мл.

Підготовляли одночасно 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 пробірках Відаля 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. 5хв. поміщали спочатку в термостат на 30 хв. при 37⁰С 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.

2.5.1.2 Дослідження вмісту В-лімфоцитів у крові. Визначали вміст В-лімфоцитів в крові за методом Чернушенко Е.Ф., Когосова Л.С. [119]. Для цього спочатку еритроцити барана два рази відливали середовищем № 199 (5 хв. при 1000 об./хв.), потім підготовляли 2,5 % суміш еритроцитів у середовищі №199. Після цього до 2 мл 2,5 % суміші еритроцитів барана додавали 2 мл кроликової гемолітичної сироватки в субгемолітичній дозі. Суміш інкубували 30 хв. при температурі 37⁰С, 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 комплекменту (свіжа мишина сироватка) у розведенні 1:10. Інкубували суміш впродовж 30 хв. при 37⁰С і обробляли антитілами та комплекментами, еритроцити барана тричі відливали середовищем №199 (по 5хв. 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.

2.5.1.3 Дослідження імунних комплексів у крові. Проводили за методом за методом Меньшикова В.В. [54]

Готували три розчини поліетиленгліколя (ПЕГ) на 0,1 боратному буфері (рН 8,4) з концентрацією 3 %, 4,2 % і 8,4 % і вносили по 4,0 мл в три пробірки відповідно. 200 мкл досліджуваної сироватки змішували з 1,0 мл 0,1 М боратного буфера, відбирали 1,0 мл і вносили в першу пробірку. Аналогічно поводитись з двома іншими пробірками. Таким чином, кінцева концентрація ПЕГ в пробірках становить відповідно 2,5 %, 3,5 % і 7 %. Пробірки ставили в холодильник при 4°C на 18-20 год. Після інкубації кожен пробірку центрифугували при 2000g 10 хв. Надосадову рідину видаляли. Преципітат двічі відмивали відповідним розчином ПЕГ, після чого розчиняли в 5 мл 0,1 н розчину їдкою натрію.

Рівень циркулюючих імунних комплексів вимірювали на спектрофотометрі СФ-46 при 280 нм і виражалися в одиницях оптичної щільності. 2.5.1.4 Дослідження цитокінів проводили за допомогою твердофазного імуноферментного аналізу.

Дослідження концентрації цитокінів ІЛ-6, ФНП- α , ІЛ-10 в сироватці крові визначали за 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 «Diacclone» (Франція). Процедуру аналізу проводили згідно з доданою інструкцією виробника.

Суть методу полягав у тому, що один тип мишачих 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. Компонентом індикатора 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 *Streptomycesavidinii*). 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 стадії реакції ці мікропланшети, які покриті мишачими моноклональними антитілами до цитокіну, інкубували при кімнатній температурі з стандартними пробами, контролем та зразками сироваток мурчаків та одночасно з біоти новим моноклональним антитілом, специфічним до відповідного цитокіну. Після інкубації незв'язане біотинове антитіло відповідного цитокіну видаляли шляхом промивання лунок мікропланшету. Додавали у подальшому ензим (стрептавідин-пероксидазу) та проводили інкубацію при кімнатній температурі. Після інкубації та промивання мікропланшет для видалення незв'язаних частинок із взірців додавали розчин субстрату, який реагує зі зв'язаним ензимом і призводить до розвитку забарвлення, інтенсивність якого прямо пропорційна концентрації цитокінів 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 в калібровочних пробах. У випадках, коли оптична щільність досліджуваної сироватки перевищувала аналогічну величину для стандарту з максимальною концентрацією, проводили повторний аналіз, розвівши взірець в 10 разів.

2.5.2 Біохімічні методи дослідження

Характеристику особливостей змін процесів ліпопероксидації і антиоксидантної системи проводили за вмістом ДК, МДА та активністю СОД,

КТ, ЦП в легенях при ЕАА та ЕП на 4-у, 7-у, 14-у і 24-у доби експерименту, окремо та в поєднанні до та після корекції L-аргініном.

2.5.2.1 Дослідження дієнових кон'югатів. Проводили визначення ДК за методом Гаврилова В.Б., Мишкорудной М.И [10].

Для цього до 0,2 мл плазми крові (0,2 мл гомогенату тканини) додавали суміш 2,0 мл ізопропілового спирту та 2,0 мл гептану. Після того струшували впродовж 15 хв, додавали 1,0 мл розчину хлористоводневої кислоти (рН 2,0) та 2,0 мл гептану. Ще раз струшували. Через 30 хв після відстоювання та розшарування фаз відбирали верхній гептановий шар, і в ньому визначали оптичну густину при довжині хвилі 233 нм у порівнянні з контролем. В якості контролю використовували зразок, в якому замість плазми крові є 0,2 мл води. Дієнові кон'югати виражали у нмоль/мл (г).

2.5.2.2 Дослідження малонового діальдегіду. Визначення МДА проводили за методом Коробейниковой Э.Н. [45].

Для цього у пробірку вносили 0,5 мл сироватки крові (0,5 мл гомогенату тканини) та додавали 5,0 мл 20 % розчину фосфорно-вольфрамової кислоти, перемішували та залишали в холодильнику на 15 хв. 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. Ретельно перемішували, слідкуючи за рН суміші, герметично закривали корками та інкубували проби 60 хв на водяній бані при 100 °С. Після того пробірки охолоджували та центрифугували при 6000 об./хв протягом 10 хв. Оптичну густину реєстрували в центрифугаті на спектрофотометрі СФ-46 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 С – концентрація МДА в наномолях на 1 мл сироватки крові;

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

2.5.2.3 Дослідження активності супероксиддисмутази. Визначення СОД проводили за методом Fried R. [150]

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.

Потім внесли 0,3 мл досліджуваної сироватки крові (0,3 мл гомогенату тканини) до цієї суміші. Запускали реакцію шляхом додавання до реакційної суміші 0,2 мл 1 мМ розчину НАД \cdot H $_2$. Струшували. Через 1 хв реакцію зупиняли 1,0 мл концентрованої оцтової кислоти. Оптичну густина визначали на спектрофотометрі СФ-46 при довжині хвилі 540 нм. Активність СОД була виражена в у.о./мл (г).

2.5.2.4 Дослідження активності каталази. Визначення КТ проводили за методом Holmes R., Masters C. [158].

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 суміші додавали 0,1 сироватки крові (0,1 мл гомогенату тканини), струшували та через 15 хв визначали оптичну густина на спектрофотометрі СФ-46 в кюветі з довжиною оптичного шляху 10 мм проти води з інтервалом 60 с. Визначали активність каталази в м.о./мл (г).

2.5.2.5 Визначення вмісту церулоплазміну за методом Колб В.Г. та Камышников В.С.[44]

У пробірку вносили по 0,1 мл сироватки (0,1 мл гомогенату тканини). В одну із пробірок, яка була контрольної, додавали 2 мл розчину фтористого натрію «з метою інактивації церулоплазміну). Потім у всі пробірки поміщали по 8 мл ацетатного буфера і по 1 мл розчину р-фенілендіаміну (використовували як субстрат). Пробірки струшували і ставили на 1 год. на водяну баню з температурою +37° С. Після інкубації у всі пробірки, за винятком контрольної, додавали по 2мл розчину фтористого натрію. Вміст пробірок перемішували і ставили в холодильник на 30хв. при температурі +4° С. проби колориметрували в ФЕК із зеленим світлофільтром (530 нм) в кюветі з

шириною шару 10мм. Результати порівнювали з даними контрольної роби (блідо-рожевого кольору). Величину концентрації церулоплазміну вираховували шляхом множення значення оптичної густини на коефіцієнт перерахунка 875 і виражали в мг/л(г).

Стан системи оксиду азоту визначали за вмістом аргініну, продуктів NO і сумарної активності NO синтаз в легенях.

Стан системи оксиду азоту вивчали за вмістом аргініну, стабільних продуктів NO і сумарної активності NO синтаз в легенях інтактних тварин при ЕАА та ЕП на 4-у, 7-у, 14-у та 24-у доби експерименту, окремо та їх поєднанні, до та після застосування L-аргініном.

2.5.2.6 Дослідження вільного аргініну за методом Алейникова Т.Л., Рубцова Г.В., Павлова Н.А. [34]

Для цього до 0,5 мл сироватки крові (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 на СФ – 56 при λ - 500 нм. Дослідну пробу та контроль спектрофотометрували проти дистильованої води. Контроль містив ті ж реактиви, що й дослід, замість сироватки була внесена дистильована вода. Концентрацію аргініну визначали за заздалегідь побудованим калібрувальним графіком.

2.5.2.7 Дослідження сумарних продуктів оксиду азоту (нітрит і нітрат йонів) у біологічних рідинах за методом Schmidt H.H. [182]

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

Дослідження концентрації сумарного метаболіту оксиду азоту проводили у гомогенаті тканин.

Наступним чином здійснювали метод: 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 $0 - + 4$ °C 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, приготовлені 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 СФ – 56 (Росія) 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.

2.5.2.8 Дослідження сумарної активності синтази оксиду азоту за методом Сумбаева В.В., Ясинской В.В. [110]

Для цього, 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 Тріс- 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 (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 NADPH·H⁺, який оксинювався протягом 1 хвилини на 1 мг білка.

Розрахунок активності синтази оксиду азоту проводили за формулою.

$$X = \frac{\Delta E \cdot P}{6,22 \cdot a \cdot b} \quad (2.3)$$

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.

2.6 Статистичне опрацювання отриманих результатів

Нами усі числові результати піддавали статистичному опрацюванню з використанням середньої арифметичної (M), похибки середньої арифметичної (m), критерію Стьюдента “ t ”. Розрахунки виконані з використанням засобів статистичного та графічного аналізу електронних таблиць Microsoft Excel пакету програм Microsoft Office.

РОЗДІЛ 3

ПАТОФІЗІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПОРУШЕНЬ ПОКАЗНИКІВ СИСТЕМИ ОКСИДУ АЗОТУ В ЛЕГЕНЯХ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ПАРОДОНТИТІ ТА АЛЕРГІЧНОМУ АЛЬВЕОЛІТІ ТА КОРЕКЦІЯ ЇХ L-АРГІНІНОМ

Нині уже доведено, що будь-який патологічний процес прямо чи опосередковано пов'язаний із поліфункціональними властивостями оксиду азоту (NO). Зазначена молекула є ідеальним біомаркером стосовно можливостей об'єктивної оцінки не тільки за фізіологічних, але й при патологічних процесах живого організму, а також визначення фармакологічного ефекту в умовах терапії патологій різного генезу [24, 31, 47, 68, 76].

Встановлено, що оксид азоту, функціонуючи як фізіологічний чи патофізіологічний посередник, що виробляється групою ізоферментів NO-синтаз – сумарних NOS та iNOS, кожна з яких має свої особливості як за механізмом дії, так і за біологічним значенням. Ізоформи NOS є діоксигеназами, які використовують кисень і NADPH для трансформації [31, 68, 76].

Літературні джерела свідчать про пряму залежність вмісту стабільних метаболітів оксиду азоту від ступеня активності патологічного процесу, що дозволяє за їх концентрацією у крові характеризувати перебіг і важкість захворювання і контролювати ефективність проведеного лікування [31, 47, 68, 76, 84, 111]. У цьому контексті з'ясування особливостей порушень маркерів системи оксиду азоту в легенях при ЕАА і ЕП до та після застосування L-аргініну має важливе значення для поглибленого розуміння окремих механізмів розвитку даних моделей хвороб та визначення ефективності призначеної патогенетичної терапії.

Результати досліджень даного розділу висвітлені, що містить чотири підрозділи у 10 таблицях та 4 рисунках.

3.1. Порухення параметрів системи оксиду азоту в динаміці розвитку експериментального пародонтиту

Відомо, що за умов розвитку хронічного пародонту виникають розлади в системі мікроциркуляції. Безпосередньою причиною розладів мікроциркуляції є ендотеліальна дисфункція, що великою мірою залежить від біодоступності оксиду азоту, який виробляється ендотеліальною формою NOS. При запальному ураженні здебільшого має місце гіперсекреція індукцибельної NOS. Що призводить до продукції надмірної продукції NO, який може відігравати роль важливого ефектора у механізмах розвитку запалення тканин пародонта [23, 24, 31, 47, 76]. Крім цього було показано, що при пародонтиті розвивається так званий нітрооксидативний стрес при якому, оксид азоту взаємодіє з супероксидним аніоном, результатом чого є утворення пероксинітриту. З останнім пов'язують альтеруючу дію NO на біологічні макромолекули. Особливо на білки та ліпіди, що у свою чергу, викликає дисбаланс процесів інактивації активних форм кисню, який призводить до порушення структури і функції клітинних мембран та закінчується загибеллю клітини, розвитком запалення [24, 31, 68, 111].

Результати біохімічних досліджень показали, що в динаміці (4-а, 7-а, 14-а, 24-а доби) формування експериментального пародонтиту відбувалося перманентне зростання вмісту стабільних метаболітів NOв легенях відповідно на 80,0%, 95,0%, 85,0% і 75,0% ($P < 0,05$) відносно контролю, що вказувало на те, що ці показники були найбільше виражені на 7-у добу спостереження, що відповідала стадії розпалу хвороби, хоча були високими в усі інші періоди розвитку цієї експериментальної моделі хвороби (табл. 3.1.; рис. 3.1).

Вивчення сумарної активності NOS в легенях дало змогу показати її постійне підвищення на 4-у, 7-, 14-у і 24-у доби ЕП відповідно на 23,3%, 56,6%,

45,0% і 46,7% ($P < 0,05$) при порівнянні з першою групою тварин, що може вказувати на активізацію запального процесу в пародонті (табл. 3.2; рис. 3.1).

Таблиця 3.1. - Вміст стабільних метаболітів NO в легенях морських свинок в різні періоди розвитку ЕП ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість ЕП в добах	Кількість тварин	Стабільні метаб. NO в мкмоль/мл мг білка
Інтактні морські свинки	Контроль	9	$0,02 \pm 0,002$
Тварини з ЕП	4-а доба	9	$0,036 \pm 0,002$ $p < 0,05$
	7-а доба	9	$0,039 \pm 0,002$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$0,037 \pm 0,002$ $p < 0,05$
	24-а доба	9	$0,035 \pm 0,02$ $p < 0,05$

Примітка. Р-достовірність різниці показників при ЕП з результатами у контрольній групі.

Таблиця 3.2. - Активність сумарної NO синтази в легенях при ЕП ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість ЕП в добах	Кількість тварин	NOS нмоль НАДФ (хв/мл) мг білка
Інтактні морські свинки	Контроль	9	$0,12 \pm 0,005$
Тварини з ЕП	4-а доба	9	$0,148 \pm 0,006$ $p < 0,05$
	7-а доба	9	$0,188 \pm 0,007$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$0,174 \pm 0,006$ $p < 0,05$
	24-а доба	9	$0,176 \pm 0,006$ $p < 0,05$

Примітка. Р-достовірність різниці показників при ЕП з результатами у контрольній групі.

Таблиця 3.3.- Вміст L-аргініну в легенях при ЕП (M±m)

Форма дослідження	Тривалість ЕП в добах	Кількість тварин	L-arg мкмоль/мЛМГ білка
Інтактні морські свинки	Контроль	9	0,04±0,004
Тварини з ЕП	4-а доба	9	0,028±0,004 p<0,05
	7-а доба	9	0,0183±0,002 p<0,05
	14-а доба	9	0,020±0,002 p<0,05
	24-а доба	9	0,019±0,002 p<0,05

Примітка. Р-достовірність різниці показників при ЕП з результатами у контрольній групі.

Визначення рівня L-аргініну в легенях при ЕП показало, що цей показник був зниженим на усіх етапах цієї експериментальної моделі хвороби проти контролю. Зокрема на 4-у, 7-у, 14-у і 24-у доби ЕП спостерігалось зниження вмісту L—аргініну в легенях відповідно на 30,0%, 54,2%, 50,0% і 52,5% (P<0,05) проти інтактної групи тварин (табл. 3.3; рис. 3.1).

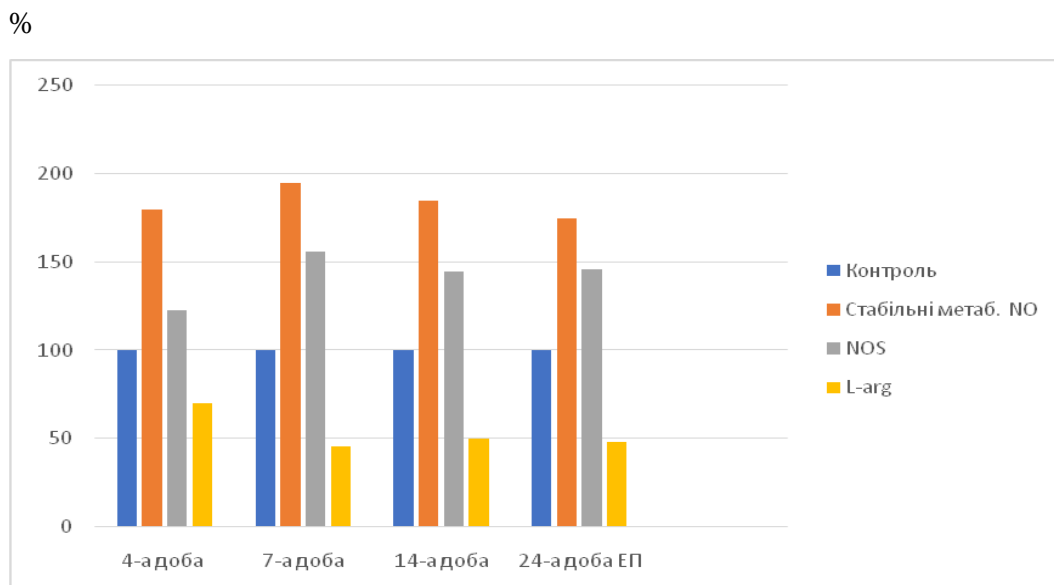


Рисунок 3.1. -Особливості змін показників системи L-аргінін-оксиду азоту у легенях морських свинок в динаміці формування ЕП (у % від контролю).

Таким чином одержані нами результати біохімічних досліджень дозволяють стверджувати, що рівень L-аргініну зазнавав найнижчих цифрових змін на 7-у добу експерименту, що відповідало стадії розпалу хвороби і очевидно це обґрунтовується значною витратою даного білка на інтенсивний синтез оксиду азоту.

Отже, здійснені нами визначення нітрит і нітрат йонів, сумарної активності NOS і L-аргініну при ЕП показало стабільне зростання стабільних метаболітів NO і активності NOS на тлі помірного зниження рівня L-аргініну в легенях з особливою перевагою на 7-у добу цієї експериментальної моделі хвороби відносно першої групи тварин і залежало від ступеня активності запального процесу в тканинах пародонта і фази його формування. Це має важливе значення щодо участі метаболічних порушень показників системи NO в патогенезі розвитку цієї експериментальної моделі хвороби.

3.2. Особливості змін показників системи оксиду азоту в легенях в динаміці формування експериментального алергічного альвеоліту (4-у, 7-у, 14-у і 24-у доби)

Основним завданням цього підрозділу було з'ясувати особливості змін показників системи NO у гомогенаті тканини легень в процесі формування експериментальної моделі алергічного альвеоліту.

Виявлено, що в процесі розвитку АА (4-а, 7-а, 14-а і 24-а доби) спостерігалось поступове підвищення рівня стабільних метаболітів NO в легенях відповідно на 70,0%, 90,0%, 95,0%, 95,0% ($P < 0,05$) проти інтактної групи тварин, що свідчило про стимуляцію імунно-алергічного процесу, що переважає у пізній етап цієї імуннокомплексної патології (табл. 3.4; 3.5).

Дослідження сумарної активності NOS показало її послідовне зростання в легенях на усіх етапах формування ЕАА (4-а, 7-а, 14-а і 24-а доби) відповідно

на 15,8%, 25,0%, 33,3%, 45,0% ($P < 0,05$) при порівнянні з першою групою тварин (табл. 3.5; рис. 3.2).

Таблиця 3.4. - Вміст стабільних метаболітів NO в легенях при ЕАА ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість ЕАА в добах	Кількість тварин	Стабільні метаб. NO в мкмоль/мл мг білка
Інтактні морські свинки	Контроль	9	$0,02 \pm 0,002$
Тварини з ЕАА	4-а доба	9	$0,034 \pm 0,002$ $p < 0,05$
	7-а доба	9	$0,038 \pm 0,002$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$0,039 \pm 0,003$ $p < 0,05$
	24-а доба	9	$0,039 \pm 0,003$ $p < 0,05$

Примітка. Р-достовірність різниці показників при ЕАА з результатами у контрольній групі.

Таблиця 3.5.- Активність сумарної NO синтази в легенях при ЕАА ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість ЕАА в добах	Кількість тварин	NOS нмоль НАДФ (хв/мл) мг білка
Інтактні морські свинки	Контроль	9	$0,12 \pm 0,005$
Тварини з ЕАА	4-а доба	9	$0,139 \pm 0,005$ $p < 0,05$
	7-а доба	9	$0,15 \pm 0,006$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$0,16 \pm 0,005$ $p < 0,05$
	24-а доба	9	$0,174 \pm 0,05$ $p < 0,05$

Примітка. Р-достовірність різниці показників при ЕАА з результатами у контрольній групі.

Визначення L-аргініну в легенях у динаміці (7-а, 14-а, 24-а доби) формування ЕАА показало зниження його рівня на усіх етапах його відповідно на 27,5%, 37,5%, 42,5% ($P < 0,05$) проти контролю, за винятком другої групи тварин (4-а доба) в якій цей показник знаходився на рівні інтактної групи тварин (табл. 3.6; рис. 3.2).

Одержані нами результати – зниження вмісту L-аргініну можна пояснити активною, підвищеною витратою його на інтенсивний синтез NO при ЕАА.

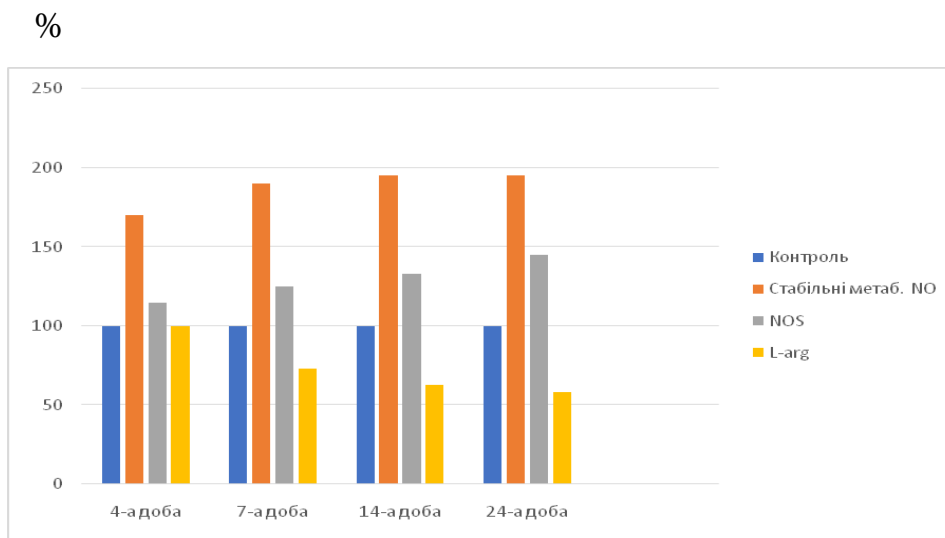


Рисунок 3.2. -Особливості змін показників системи L-аргінін-оксиду азоту у легенях морських свинок в динаміці формування ЕАА (% від контролю).

Таблиця 3.6. - Вміст L-аргініну в легенях при ЕАА ($M \pm m$)

Форма дослідю	Тривалість ЕАА в добах	Кількість тварин	L-arg мкмоль/мл мг білка
Інтактні морські свинки	Контроль	9	0,04±0,004
Тварини з ЕАА	4-а доба	9	0,036±0,004 $p > 0,05$
	7-а доба	9	0,029±0,003 $p < 0,05$
	14-а доба	9	0,025±0,002 $p < 0,05$
	24-а доба	9	0,023±0,002

			p<0,05
--	--	--	--------

Примітка. Р-достовірність різниці показників при ЕАА з результатами у контрольній групі.

Таким чином, підводячи підсумок отриманих нами результатів досліджень можна констатувати, що ЕАА на усіх стадіях свого розвитку суттєво вплинув на параметри системи оксиду азоту: зокрема було виявлено значне поступове підвищення вмісту стабільних метаболітів NO і сумарної активності NO синтази на тлі помірного зниження рівня L-аргініну з домінування їх зміну пізній період (14-а, 24-а доби) цієї імунокомплексної патології відносно першої групи тварин.

3.3. Особливості порушень системи оксиду азоту у легенях в процесі формування експериментального пародонтиту асоційованого з експериментальним алергічним альвеолітом

ЕП поєднаний з ЕАА (4-а, 7-а, 14-а, 24-а доби) зумовлював суттєве послідовне підвищення рівня стабільних метаболітів NO в легенях відповідно на 90,0%, 95,0%, 100,0%, 110,0%(P<0,05) проти контрольної групи тварин, що вказує на стимуляції імунно-запального процесу та залежність його вираження від тривалості цих коморбідних патологій (табл. 3.7; рис. 3.3).

Отримані нами результати досліджень свідчать про те, що власне за визначенням даного маркера оксиду азоту можна оцінювати ступінь активності цієї моделі хвороб.

Дослідження сумарної активності NOS було показано, що в процесі (4-а, 7-а, 14-а, 24-а доби) розвитку ЕП разом з ЕАА відбувається поетапне її підвищення в легенях відповідно на 65,0%, 66,7%, 100,0%, 133,3% (P<0,05) при порівнянні з інтактною групою морських свинок, що може вказувати на активізацію імунно-запального процесу в легенях та прогресування цієї імунокомплексної патології і запального процесу в тканинах пародонта (табл. 3.8; рис. 3.3).

Вивчення концентрації L-аргініну в легенях в умовах коморбідності ЕП і ЕАА(на 4-у, 7-у, 14-у і 24-у доби експерименту)встановлено поетапне його зниження відповідно на 57,5%, 62,5%, 65,0% і 70,0%(P<0,05) проти першої групи тварин (табл. 3.9; рис. 3.3).

Таблиця 3.7.- Вміст стабільних метаболітів NO в легенях морських свинок в різні періоди розвитку ЕП та ЕАА (M±m)

Форма досліджу	Тривалість ЕП і ЕАА в добах	Кількість тварин	Стабільні метаб. NO в мкмоль/л мг білка
Інтактні морські свинки	Контроль	9	0,02±0,002
Тварини з ЕП та ЕАА	4-а доба	9	0,038±0,002 p<0,05
	7-а доба	9	0,039±0,003 p<0,05
	14-а доба	9	0,04±0,004 p<0,05
	24-а доба	9	0,042±0,004 p<0,05

Примітка. Р-достовірність різниці показників при порівнянні ЕП та ЕАА з результатами у контрольній групі.

Таблиця 3.8. – Сумарна активність NO синтази в легенях при ЕП та ЕАА (M±m)

Форма досліджу	Тривалість ЕП і ЕАА в добах	Кількість тварин	NOS нмоль НАДФ (хв/мл) мг білка
Інтактні морські свинки	Контроль	9	0,12±0,005
Тварини з ЕП та ЕАА	4-а доба	9	0,19±0,008 p<0,05
	7-а доба	9	0,20±0,008 p<0,05
	14-а доба	9	0,24±0,008 p<0,05
	24-а доба	9	0,28±0,008 p<0,05

Примітка. Р-достовірність різниці показників при порівнянні ЕП та ЕАА з результатами у контрольній групі.

Таблиця 3.9. – Вміст L-аргініну в легенях при ЕП та ЕАА (M±m)

Форма досліджу	Тривалість ЕП і ЕАА в добах	Кількість тварин	L-arg мкмоль/мл мг білка
Інтактні морські свинки	Контроль	9	0,04±0,004
Тварини з ЕП та ЕАА	4-а доба	9	0,017±0,001 p<0,05
	7-а доба	9	0,015±0,001 p<0,05
	14-а доба	9	0,014±0,001 p<0,05
	24-а доба	9	0,012±0,001 p<0,05

Примітка. Р-достовірність різниці показників при порівнянні ЕП та ЕАА з результатами у контрольній групі.

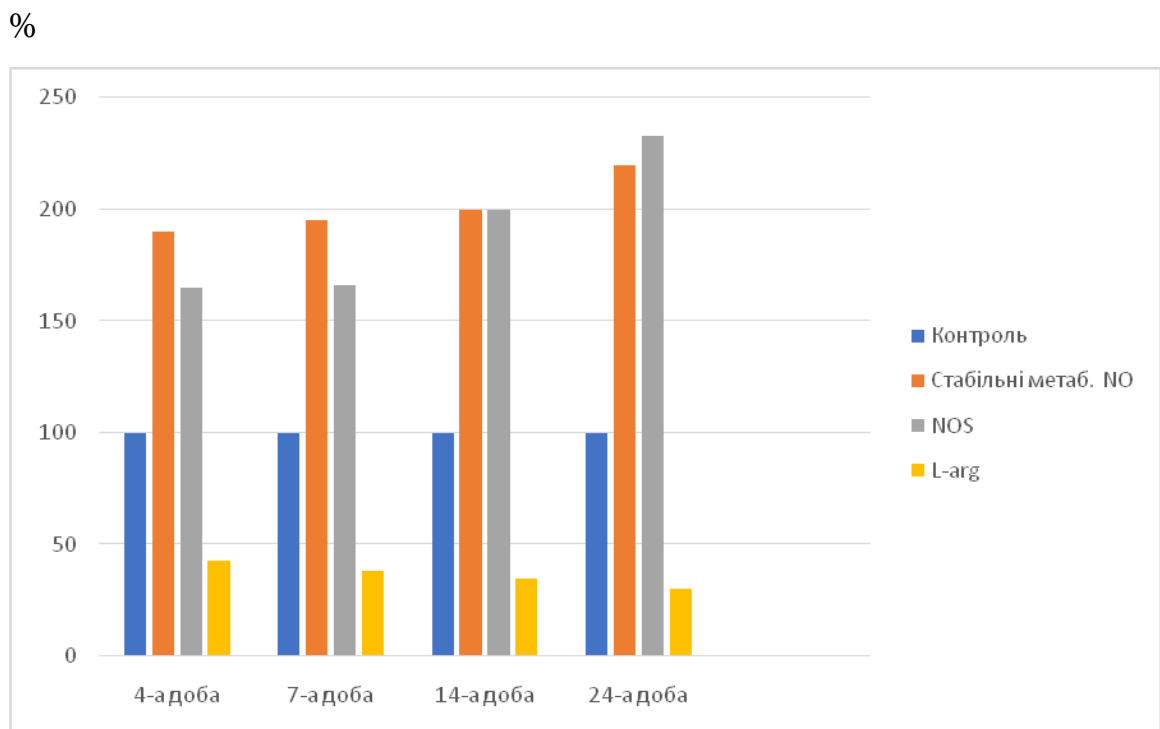


Рисунок 3.3.-Особливості змін показників системи L-аргінін-оксиду азоту у легенях в динаміці розвитку ЕП і ЕАА (% від контролю).

Проведений нами аналіз одержаних результатів дослідження щодо рівня L-аргініну можна пояснити суттєвими витратами його на надмірний інтенсивний синтез оксиду азоту, який поступово зростає в залежності від тривалості експерименту, особливо в умовах асоційованого ЕП з ЕАА, що свідчило про помітні порушення метаболізму показників оксиду азоту, а також про виражену активізацію імунно-запальних процесів у легенях і прогресування та їх важливу роль для визначення шляхів і стратегії патогенетичної терапії даної коморбідної патології.

Отже, проведений нами комплекс біохімічних досліджень стосовно маркерів оксиду азоту при поєднаному моделюванні ЕП і ЕАА показав суттєві зміни щодо системи NO, які проявлялися вираженим підвищенням рівня стабільних метаболітів NO і активності NOS на тлі помітного зниження концентрації L-аргініну в легенях. Зазначені порушення метаболізму NO домінували особливо на 14-у і 24-у доби експерименту проти контрольних параметрів та вказували на їх активну участь в механізмах формування цих експериментальних моделей хвороб.

3.4. Вплив препарату L-аргініну на змінені маркери системи оксиду азоту в легенях за умов розвитку ЕП і ЕАА

Застосування L-аргініну з 14-ої по 24-у доби експерименту в/му дозі 150 мг/кг маси щоденно призводило до зниження рівня стабільних метаболітів NO на 30,9% ($P < 0,05$) та сумарної активності NOS в гомогенаті легень на 53,5% ($P < 0,05$) і зростання вмісту L-аргініну на 150,0% ($P < 0,05$) при ЕП і ЕАА на 24-у добу експерименту відносно групи тварин, які не піддавалися дії цього лікарського середника, що вказувало на їх коригувальний вплив на порушені показники системи оксиду азоту (табл. 3.10; рис. 3.4).

Таким чином, аналізуючи одержані нами результати досліджень дозволяють констатувати, що асоційований ЕП з ЕАА спричиняє більш суттєві

порушення показників системи оксиду азоту ніж окремо до лікування проти інтактної групи тварин, а у випадку застосування L-аргініну може свідчити про його позитивну дію на змінені метаболічні процеси, а саме оксиду азоту в легенях, які розвинулися умовах коморбідної патології(ЕП та ЕАА).

Таблиця 3.10. - Вплив препарату L-аргініну на порушені показники системи NO у легенях при ЕАА і ЕП($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	Стабільні метаб. NO в мкмоль/л мг білка	Сумарні NOS нмоль НАДФ (хв/мл) мг білка	L-arg мкмоль/мл мг білка
Інтактні морські свинки	Контроль	9	0,02±0,002	0,12±0,005	0,04±0,004
Тварини з ЕАА і ЕП на 24-у добу (до лікування)	24-а доба	9	0,042±0,004 P<0,05	0,28±0,008 P<0,05	0,012±0,001 P<0,05
Тварини з ЕАА і ЕП на 24-у добу (після лікування)	24-а доба	9	0,029±0,002 P<0,05 P ₁ <0,05	0,130±0,005 P<0,05 P ₁ <0,05	0,30±0,003 P<0,05 P ₁ <0,05

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

Примітка 2. p₁ – достовірність різниці при порівнянні показників (на 24-у добу ЕАА і ЕП) до та після лікування L-аргініном.

У медичній літературі ми не знайшли механізму дії L-аргініну на порушені маркери NO за умов поєднаної патології (ЕП і ЕАА). На нашу думку, введення препарату поповнює дефіцит аргініну в організмі оскільки було

встановлено його зниження, а також знижує вміст стабільних метаболітів NO і сумарної активності NOS, дає підставу говорити про його позитивну дію.

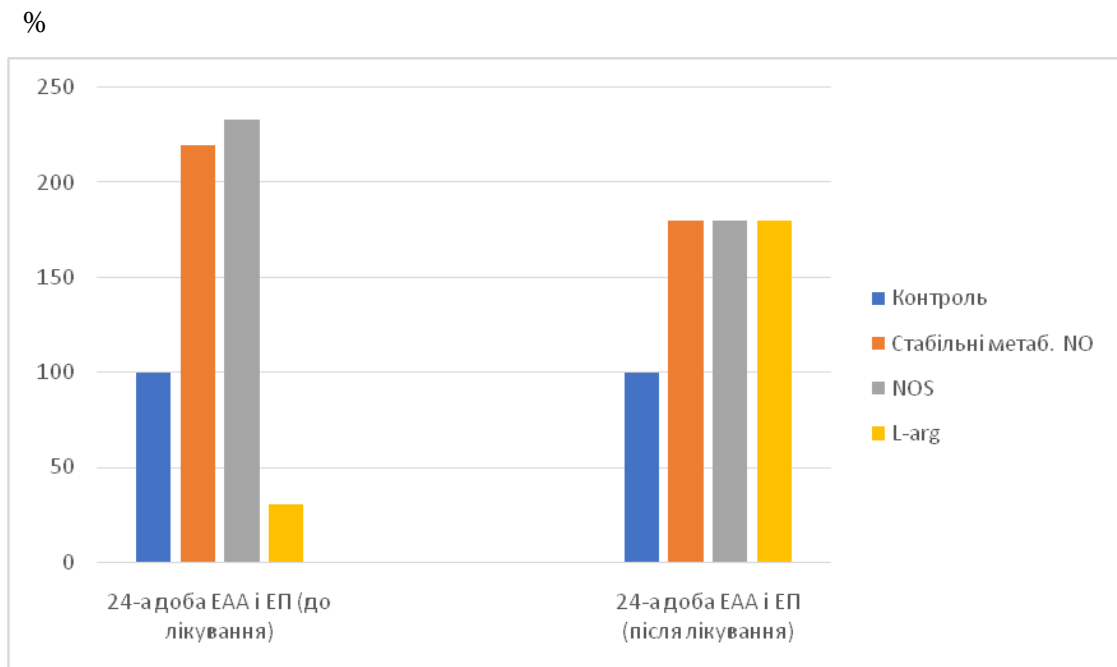


Рисунок 3.4. - Вплив L-аргініну на змінені показники системи L-аргінін-оксиду азоту у легенях при ЕАА і ЕП на 24-у добу експерименту (% порівняння до та після лікування).

Отже, одержані нами позитивні результати впливу L-аргініну дають основу стверджувати, що зазначений лікарський середник зумовлював коригуючу дію на змінені маркери NO і надалі є доцільним для його вивчення у клініці при ЕАА і ЕП стоматологами, пульмонологами, алергологами.

На основі отриманих нами результатів дослідження було зроблено наступні проміжні висновки.

1. ЕАА зумовлює помітні порушення показників оксиду азоту, які проявлялися зростанням вмісту стабільних метаболітів NO і сумарної активності NOS на тлі суттєвого зниження рівня L-аргініну в легенях, що переважали на 14-у і 24-у доби експерименту проти контролю.

2. ЕП на усіх етапах (4-а, 7-а, 14-а, 24-а доби) свого розвитку відбувалося зниження концентрації L-аргініну та зростання рівня стабільних метаболітів NO і сумарної активності NOS в легенях з домінуванням їх на 7-у добу

експерименту, що відповідало стадії розпалу хвороби відносно інтактної групи тварин.

3. ЕАА асоційований з ЕП спричиняє глибокі зміни метаболізму NO на усіх періодах (4-а, 7-а, 14-а, 24-а доби) їх формування з особливою перевагою на 24-у добу, а саме підвищення рівня нітрит і нітрат іонів NO, сумарної активності NOS і зниження вмісту L-аргініну в легенях проти контрольної групи тварин до терапії. Ці зміни при поєднанні ЕАА і ЕП були більше виражені ніж ізольовано відносно контролю.

4. Застосування L-аргініну морським свинкам з ЕП і ЕАА призводило до помітного зниження рівня стабільних метаболітів NO і сумарної активності NOS та суттєвого зростання вмісту L-аргініну в легенях, що вказувало на його коригувальний вплив на метаболізм показників системи оксиду азоту при порівнянні з групою тварин на 24-у добу даної коморбідної патології до та після лікування.

Результати дослідження даного розділу дисертації висвітлені в одній науковій праці [109].

РОЗДІЛ 4

РОЛЬ ЗМІНЕНИХ ПОКАЗНИКІВ ПРООКСИДАНТНОЇ І АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМ В ЛЕГЕНЯХ В МЕХАНІЗМАХ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПАРОДОНТИТУ ТА АЛЕРГІЧНОГО АЛЬВЕОЛІТУ ТА КОРЕКЦІЯ ЇХ L-АРГІНІНОМ

Даний розділ дисертаційної роботи, що містить чотири підрозділи присвячений вивченню особливостей порушень процесів ліпопероксидації та стану антиоксидантного захисту в самців морських свинок у різні періоди розвитку ЕАА та ЕП, які дають можливість з'ясувати участь одного з молекулярних механізмів пошкодження клітин за допомогою визначення вмісту ДК, МДА та активності СОД, КТ, ЦП в легенях при даних моделях хвороби до та після використання препарату L-аргініну.

Цілий ряд науковців стверджують, що реакціям вільнорадикального впливу підлягають усі органічні структури, але провідне значення має окиснення фосфоліпідів і не естерифікованих жирних кислот, у перекисах яких наявні два спряжені подвійні зв'язки [25, 33, 41, 46, 51, 52, 53, 57, 62, 65, 66, 102, 114]. У зв'язку з тим, дані первинні продукти окиснення отримали назву ДК. Серед об'єктів повторних атак окиснювачів на ліпідні комплекси клітинних мембран ключове місце займає малоновий діальдегід, як кінцевий продукт ліпопероксидації [69, 70, 73, 74, 75, 80, 92, 93, 118]. Надмірна продукція метаболітів ліпопероксидації, нагромаджуючись в крові та негативно впливаючи на функцію органів, тим самим ускладнює і маніфестацію різних захворювань [3, 4, 5, 6, 7, 8, 42, 50, 14, 16, 19, 20, 21, 38, 39, 40, 41, 105].

Для цього були здійснені комплексні біохімічні дослідження та оцінені результати порушення маркерів прооксидантної (ДК і МДА) та ферментативної (СОД, КТ) і не ферментативної (ЦП) ланок антиоксидантної системи у легенях

тварин за розвитку експериментального алергічного альвеоліту та пародонтиту до лікування та після лікування L-аргініном.

Результати досліджень представлені в 20 таблицях та 4 рисунках.

4.1 Особливості змін стану прооксидантної і антиоксидантної систем в легенях за умов формування експериментального алергічного альвеоліту на 4-у, 7-у, 14-у і 24-у доби.

В умовах формування (4-а, 7-а, 14-а, 24-а доби) ЕАА відбувалося поступове зростання вмісту ДК в легенях відповідно на 24,2% ($P < 0,05$), 27,3% ($P < 0,05$), 47,7% ($P < 0,05$) проти контролю. Виняток складала лише друга група морських свинок (4-а доба) у яких ці показники знаходилися на рівні контрольної групи тварин (табл. 4.1; рис. 4.1.).

Таблиця 4.1 – Вміст дієнових кон'югатів у легенях морських свинок в різні періоди розвитку ЕАА ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	ДК в нмоль/(г)
Інтактні морські свинки	Контроль	9	$12,8 \pm 0,5$
Тварини з ЕАА	4-а доба	9	$13,2 \pm 0,5$ $p > 0,05$
	7-а доба	9	$15,9 \pm 0,4$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$16,3 \pm 0,4$ $p < 0,05$
	24-а доба	9	$18,9 \pm 0,6$ $p < 0,05$
Примітка. P – достовірність різниці показників при порівнянні ЕАА з результатами у контрольній групі.			

Аналогічних векторних змін зазнав рівень МДА в легенях при ЕАА, поетапно був підвищеним на 7-у, 14-у і 24-у доби відповідно на 18,9% ($P < 0,05$), 21,7% ($P < 0,05$), 31,8% ($P < 0,05$) порівняно з інтактними морськими свинками,

окрім групи тварин на 4-у добу експерименту, які не зазнавали достовірних змін (табл.4.2; рис. 4.1).

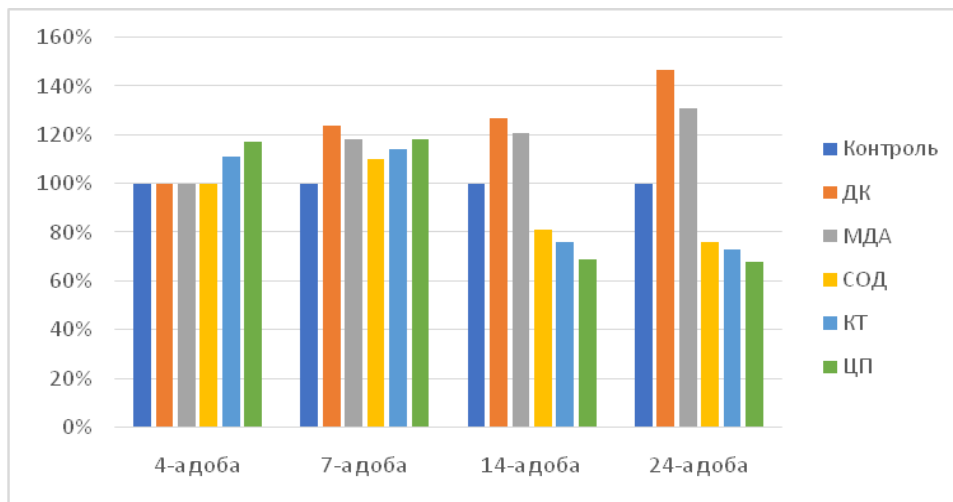


Рисунок 4.1 – Стан прооксидантної і антиоксидантної систем в легенях тварин в динаміці формування ЕАА (у % від контролю).

Таблиця 4.2–Вміст малонового діальдегіду в легенях морських свинок в різні періоди розвитку ЕАА (M±m)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	МДА в нмоль/(г)
Інтактні морські свинки	Контроль	9	21,7 ± 0,7
Тварини з ЕАА	4-а доба	9	22,4 ± 0,7 p>0,05
	7-а доба	9	25,8 ± 0,8 p<0,05
	14-а доба	9	26,4 ± 0,8 p<0,05
	24-а доба	9	28,6 ± 0,9 p<0,05
Примітка. P – достовірність різниці показників при порівнянні ЕАА з результатами у контрольній групі.			

На початкових (4-а доба) періодах розвитку ЕАА активність СОД в легенях була на рівні контролю. Далі на 7-у добу експерименту відбувалося компенсаторне підвищення цього ензиму на 10,4% (P<0,05) відносно інтактної групи тварин.

Пізній період (14-а, 24-а доби) відзначався значною депресією активності СОД відповідно на 19,3% і 24,0% ($P < 0,05$) порівняно з першою групою тварин (табл. 4.3.; рис. 4.1).

Таблиця 4.3–Активність СОД в легенях морських свинок в різні періоди розвитку ЕАА ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	СОД в у.о./(Γ)
Інтактні морські свинки	Контроль	9	$126,9 \pm 3,4$
Тварини з ЕАА	4-а доба	9	$133,7 \pm 3,7$ $p > 0,05$
	7-а доба	9	$140,1 \pm 3,9$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$102,4 \pm 2,3$ $p < 0,05$
	24-а доба	9	$96,5 \pm 2,2$ $p < 0,05$
Примітка. P – достовірність різниці показників при порівнянні ЕАА з результатами у контрольній групі.			

Таблиця 4.4- Активність каталази в легенях морських свинок в різні періоди розвитку ЕАА ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	КТ в м.о./(Γ)
Інтактні морські свинки	Контроль	9	$46,1 \pm 2,3$
Тварини з ЕАА	4-а доба	9	$51,4 \pm 2,5$ $p < 0,05$
	7-а доба	9	$52,9 \pm 2,8$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$34,8 \pm 0,6$ $p < 0,05$
	24-а доба	9	$33,5 \pm 0,6$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ЕАА з результатами у контрольній групі.			

Визначення іншого ензиму, а саме активність КТ в легенях у ранній період (4-а, 7-а доби) ЕАА спостерігалось незначне зростання цього ферменту відповідно на 11,5% і 14,8% ($P<0,05$), а пізніше на 14-у і 24-у доби моделювання хвороби відбувалося помітне її зниження в гомогенаті легень відповідно на 24,5% і 27,3% ($P<0,05$) в порівнянні з інтактними тваринами (табл. 4.4; рис. 4.1), що свідчило спочатку про компенсаторну реакцію даного ензиму на надмірне нагромадження продуктів ПОЛ, а потім її виснаження.

Власне, у період, що включає 14-у і 24-у доби роботи ЕАА відбувається формування оксидантного стресу, який посилює активність алергічного альвеоліту в легенях.

Таблиця 4.5– Вміст ЦП в легенях морських свинок в різні періоди розвитку ЕАА (M±m)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	ЦП в мг/л
Інтактні морські свинки	Контроль	9	25,1 ± 0,68
Тварини з ЕАА	4-а доба	9	29,4±0,8 p<0,05
	7-а доба	9	29,8 ± 0,8 p<0,05
	14-а доба	9	17,1 ± 0,5 p<0,05
	24-а доба	9	16,9 ± 0,5 p<0,05
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ЕАА з результатами у контрольній групі.			

Крім ферментативної ланки АОС, досліджували вміст ЦП в легенях при ЕАА, що відноситься до неферментативної компоненти антиоксидантного захисту. Було встановлено, що на 4-у і 7-у доби ЕАА рівень ЦП зростав на 17,1% і 18,7% ($P<0,05$), а згодом на 14-у і 24-у доби цієї патології цей показник зазнавав зниження відповідно на 31,9% і 32,7% ($P<0,05$) проти першої групи тварин (табл. 4.6; рис. 4.1).

Таким чином, як показує аналіз наших біохімічних досліджень вмісту, а саме, як первинних так і кінцевих продуктів ПОЛ (ДК, МДА) так і активності СОД, КТ і рівня ЦП в легенях спостерігалось поступове зростання метаболітів ліпопероксидації та спочатку компенсаторне зростання зазначених вище ензимів (СОД, КТ, ЦП) (4-а, 7-а доби), а пізніше їх достовірне зниження, що свідчило про розвиток оксидативного стресу. Останній спричиняє прогресування алергічного процесу в легенях.

4.2 Стан перекисного окиснення ліпідів і антиоксидантної системи в легенях за умов розвитку експериментального пародонтиту

Метою другого підрозділу було вивчення патофізіологічних змін стосовно порушень показників ПОЛ і АОС в динаміці розвитку ЕП.

При відтворенні ЕП було встановлено поетапне підвищення рівня ДК в легенях (4-а, 7-а, 14-а, 24-а доби) відповідно на 22,7% ($P < 0,05$), 31,3% ($P < 0,05$), 37,5% ($P < 0,05$) 50,0% ($P < 0,05$) проти контролю, що вказувало на надмірне утворення продуктів ліпопероксидації (табл. 4.6; рис. 4.2).

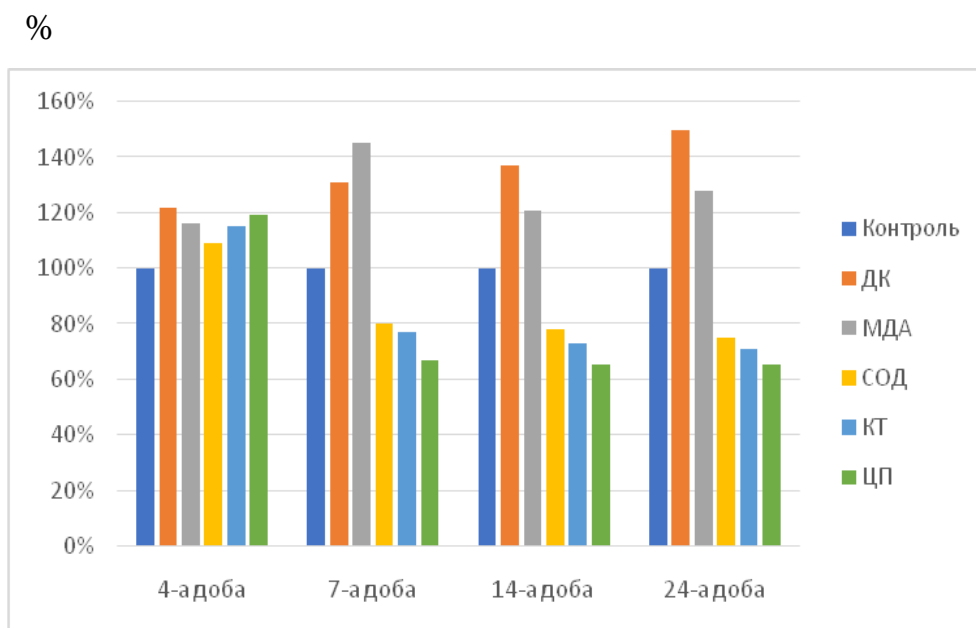


Рисунок 4.2 – Стан прооксидантної і антиоксидантної систем в легенях тварин в динаміці формування ЕП (у % від контролю).

Таблиця 4.6 – Вміст дієнових кон'югатів в легенях морських свинок в різні періоди розвитку ЕП (M±m)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	ДК в нмоль/(г)
Інтактні морські свинки	Контроль	9	12,8 ± 0,5
Тварини з ЕП	4-а доба	9	15,7±0,4 p<0,05
	7-а доба	9	16,8 ± 0,4 p<0,05
	14-а доба	9	17,6 ± 0,5 p<0,05
	24-а доба	9	19,2 ± 0,6 p<0,05
Примітка. Р – достовірність різниці показників при порівнянні ЕП з результатами у контрольній групі.			

Таблиця 4.7 - Вміст малонового діальдегіду в легенях морських свинок в різні періоди розвитку ЕП (M±m)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	МДА в нмоль/(г)
Інтактні морські свинки	Контроль	9	21,7 ± 0,7
Тварини з ЕП	4-а доба	9	25,2±0,2 p<0,05
	7-а доба	9	31,5 ± 0,9 p<0,05
	14-а доба	9	26,3 ± 0,8 p<0,05
	24-а доба	9	27,9 ± 0,8 p<0,05
Примітка. р – достовірність різниці показників при порівнянні ЕП з результатами у контрольній групі.			

Подібних зрушень зазнав інший показник за яким характеризували ступінь ПОЛ, зокрема МДА вміст якого зростав у легенях і досягнув найвищих цифр у стадію розпалу запального процесу в пародонті. А саме МДА зростав на

16,1%, 45,2%, 21,2%, 28,6% ($P < 0,05$) відносно першої групи при ЕП відповідно на 4-у, 7-у, 14-у і 24-у доби експерименту (табл. 4.7; рис. 4.2).

Для того, щоб виявити наявність оксидантного стресу крім визначень первинних і кінцевих продуктів ПОЛ необхідно досліджувати стан активності антиоксидантної системи в динаміці формування ЕП.

Таблиця 4.8- Активність СОД в легенях морських свинок в різні періоди розвитку ЕП ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	СОД в у.о./(μ)
Інтактні морські свинки	Контроль	9	$126,9 \pm 3,4$
Тварини з ЕП	4-а доба	9	$138,2 \pm 3,7$ $p < 0,05$
	7-а доба	9	$101,2 \pm 2,3$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$98,4 \pm 2,2$ $p < 0,05$
	24-а доба	9	$95,1 \pm 2,2$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ЕП з результатами у контрольній групі.			

Надмірна продукція метаболітів ліпопероксидації суттєво вплинула на маркери активності, як ферментативної так і неферментативної ланок антиоксидантного захисту при ЕП. Спочатку на 4-у добу формування пародонтиту спостерігалось незначне компенсаторне підвищення активності СОД в легенях на 8,9% ($P < 0,05$) проти тварин, яким не проводили моделювання захворювання. Пізніше, а саме на 7-у, 14-у і 24-у доби перебігу запалення в пародонті спостерігалось помітне зниження даного ферменту відповідно на 20,5% ($P < 0,05$), 22,5% ($P < 0,05$), 25,1% ($P < 0,05$) в порівнянні з першою групою тварин, що свідчило про неспроможність АОС активно нейтралізувати велику кількість продуктів ПОЛ (табл. 4.8; рис. 4.2).

Таблиця 4.9- Активність каталази в легенях морських свинок в різні періоди розвитку ЕП ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	КТ в м.о./(Γ)
Інтактні морські свинки	Контроль	9	$46,1 \pm 2,3$
Тварини з ЕП	4-а доба	9	$53,1 \pm 2,8$ $p < 0,05$
	7-а доба	9	$35,2 \pm 0,7$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$33,4 \pm 0,7$ $p < 0,05$
	24-а доба	9	$32,5 \pm 0,6$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ЕП з результатами у контрольній групі.			

Таблиця 4.10–Вміст ЦП в легенях морських свинок в різні періоди розвитку ЕП ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	ЦП в мг/л
Інтактні морські свинки	Контроль	9	$25,1 \pm 0,68$
Тварини з ЕП	4-а доба	9	$30,1 \pm 0,8$ $p < 0,05$
	7-а доба	9	$16,8 \pm 0,5$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$16,1 \pm 0,5$ $p < 0,05$
	24-а доба	9	$15,4 \pm 0,5$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ЕП з результатами у контрольній групі.			

Дослідження іншого фермента, а зокрема активності КТ показало, що ранній період (4-а доба) ЕП супроводжувався помітним підвищенням даного ензиму в легенях лише на 15,2% ($P < 0,05$), а згодом в наступні 7-у, 14-у і 24-у доби експерименту мала місце тенденція до зниження активності відповідно на

23,6%, 27,5%, 29,5% ($P < 0,05$) проти контролю, що дозволяє констатувати про депресивний стан даного ферменту (табл. 4.9; рис. 4.2).

Не менш важливим для комплексної оцінки визначення здатності антиоксидантного захисту має дослідження третього компоненту АОС, а саме вмісту ЦП в легенях при ЕП.

Було показано незначне підвищення рівня ЦП на 19,9% ($P < 0,05$) на початкових періодах формування (4-а доба) ЕП, а далі на 7-у, 14-у і 24-у доби цієї експериментальної моделі хвороби відбувалося суттєве зниження вмісту ЦП. Зокрема відповідно на 33,1%, 35,9% і 38,6% ($P < 0,05$) відносно інтактної групи тварин (табл. 4.10; рис. 4.2).

Таким чином, проведене нами комплексне біохімічне дослідження рівня ДК, МДА та активності СОД, КТ і вмісту ЦП в легенях показало стабільно прогресуюче зростання процесів ліпопероксидації на тлі зростання активності, як ферментативної так і неферментативної ланок АОС (4-а доба) з наступним пригніченням їх активності особливо на 14-у і 24-у доби ЕП, що дало підстави констатувати про формування оксидантного стресу та посилення запального процесу в тканинах пародонту.

4.3 Порухення процесів ліпопероксидації і антиоксидантної системи в легенях при експериментальному алергічному альвеоліту асоційованого з експериментальним пародонтитом

Значний інтерес викликають біохімічні дослідження, які присвячені вивченню особливостей порушень показників прооксидантної (ДК, МДА) і антиоксидантної системи (СОД, КТ, ЦП) в легенях в динаміці розвитку ЕАА асоційованого з ЕП до лікування.

Нами встановлено, що в процесі формування ЕП і ЕАА (4-а, 7-а, 14-а і 24-а доби) відбувалося поетапне зростання вмісту ДК відповідно на 28,1%, 46,9% ($P < 0,05$), 68,0% 76,6% ($P < 0,05$ порівняно з контрольною групою тварин, що

можна розцінити як активацію утворення продуктів ліпопероксидації і їх пошкоджуючий вплив на організм (табл. 4.11,; рис. 4.3).

Таблиця 4.11 - Вміст дієнових кон'югатів у легенях морських свинок в різні періоди розвитку ЕАА і ЕП ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	ДК в нмоль/(г)
Інтактні морські свинки	Контроль	9	$12,8 \pm 0,5$
Тварини з ЕАА і ЕП (до лікування)	4-а доба	9	$16,4 \pm 0,4$ $p < 0,05$
	7-а доба	9	$18,8 \pm 0,6$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$21,5 \pm 0,7$ $p < 0,05$
	24-а доба	9	$22,6 \pm 0,8$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ЕАА і ЕП з результатами у контрольній групі.			

Аналогічних порушень, як видно із таблиці 4.12 і рисунку 4.3, що вміст МДА в легенях в динаміці (4-а, 7-а, 14-а і 24-а доби) формування поєднаних алергічних і запальних процесів спостерігалось послідовне нагромадження кінцевого продукту ПОЛ, а саме його зростання відповідно на 30,9%, 60,4%, 67,3% , 82,0% ($P < 0,05$) в порівнянні з першою групою морських свинок.

Отже, стабільно прогресуюче накопичення, як первинних так і вторинних метаболітів ліпопероксидації суттєво впливає на стан активності, як ферментативної так і неферментативної ланок антиоксидантного захисту.

З перших діб нашого дослідження і надалі (4-а, 7-а, 14-а і 24-а доби) поєданого ЕАА і ЕП відбувалося виснаження ферментативної АОС, зокрема активність СОД відповідно була зниженою на 20,3%, 24,1% , 33,4, 39,8% ($P < 0,05$) відносно контролю (табл. 4.13; рис. 4.3).

Таблиця 4.12- Вміст малонового діальдегіду в легенях морських свинок в різні періоди розвитку ЕАА і ЕП (M±m)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	МДА в нмоль/(г)
Інтактні морські свинки	Контроль	9	21,7 ± 0,7
Тварини з ЕАА і ЕП (до лікування)	4-а доба	9	28,4±0,9 p<0,05
	7-а доба	9	34,8 ± 1,1 p<0,05
	14-а доба	9	36,3 ± 1,2 p<0,05
	24-а доба	9	39,5 ± 1,3 p<0,05
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ЕАА і ЕП з результатами у контрольній групі.			

Таблиця 4.13- Активність СОД в легенях морських свинок в різні періоди розвитку ЕАА і ЕП (M±m)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	СОД в у.о./(г)
Інтактні морські свинки	Контроль	9	126,9 ± 3,4
Тварини з ЕАА і ЕП (до лікування)	4-а доба	9	101,2±0,3 p<0,05
	7-а доба	9	96,3 ± 2,2 p<0,05
	14-а доба	9	84,5 ± 2,2 p<0,05
	24-а доба	9	76,4 ± 2,1 p<0,05
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ЕАА і ЕП з результатами у контрольній групі.			

Активність іншого ферменту, а саме КТ в легенях в процесі формування коморбідної патології (ЕАА і ЕП) на 4-у, 7-у, 14-у і 24-у доби спостерігалось

помітне зниження активності даного ензиму відповідно на 28,4%, 33,8%, 39,0% 40,8% ($P < 0,05$) проти інтактної групи тварин (табл. 4.14; рис. 4.4).

Таблиця 4.14- Активність каталази в легенях морських свинок в різні періоди розвитку ЕАА і ЕП ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	КТ в м.о./(Γ)
Інтактні морські свинки	Контроль	9	$46,1 \pm 2,3$
Тварини з ЕАА і ЕП (до лікування)	4-а доба	9	$33,0 \pm 0,7$ $p < 0,05$
	7-а доба	9	$30,5 \pm 0,6$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$28,1 \pm 0,5$ $p < 0,05$
	24-а доба	9	$27,3 \pm 0,5$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ЕАА і ЕП з результатами у контрольній групі.			

Таблиця 4.15–Вміст ЦП в легенях морських свинок в різні періоди розвитку ЕАА і ЕП ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	ЦП в мг/л
Інтактні морські свинки	Контроль	9	$25,1 \pm 0,68$
Тварини з ЕАА і ЕП (до лікування)	4-а доба	9	$16,2 \pm 0,5$ $p < 0,05$
	7-а доба	9	$15,1 \pm 0,4$ $p < 0,05$
	14-а доба	9	$14,3 \pm 0,3$ $p < 0,05$
	24-а доба	9	$13,2 \pm 0,2$ $p < 0,05$
Примітка. p – достовірність різниці показників при порівнянні ЕАА і ЕП з результатами у контрольній групі.			

Визначення вмісту ЦП в легенях в умовах розвитку ЕАА асоційованого з ЕП (4-а, 7-а, 14-а, 24-а доби) показало суттєве зниження рівня даного показника відповідно на 35,5%, 39,8%, 43,0%, 47,4% ($P < 0,05$) в порівнянні з першою групою морських свинок (табл. 4.15; рис. 4.3).

Таким чином, проводячи аналіз одержаних нами результатів дослідження, можна стверджувати, що поєднаний АА і ЕП зумовлює суттєві зміни процесів ліпопероксидації, які прогресивно зростали на тлі виснаження, як ферментативної так і неферментативної ланок АОЗ з розвитком оксидантного стресу, що вказувало на прогресування починаючи з перших днів наших досліджень досягаючи найвищої активності в пізній період цих моделей хвороб.

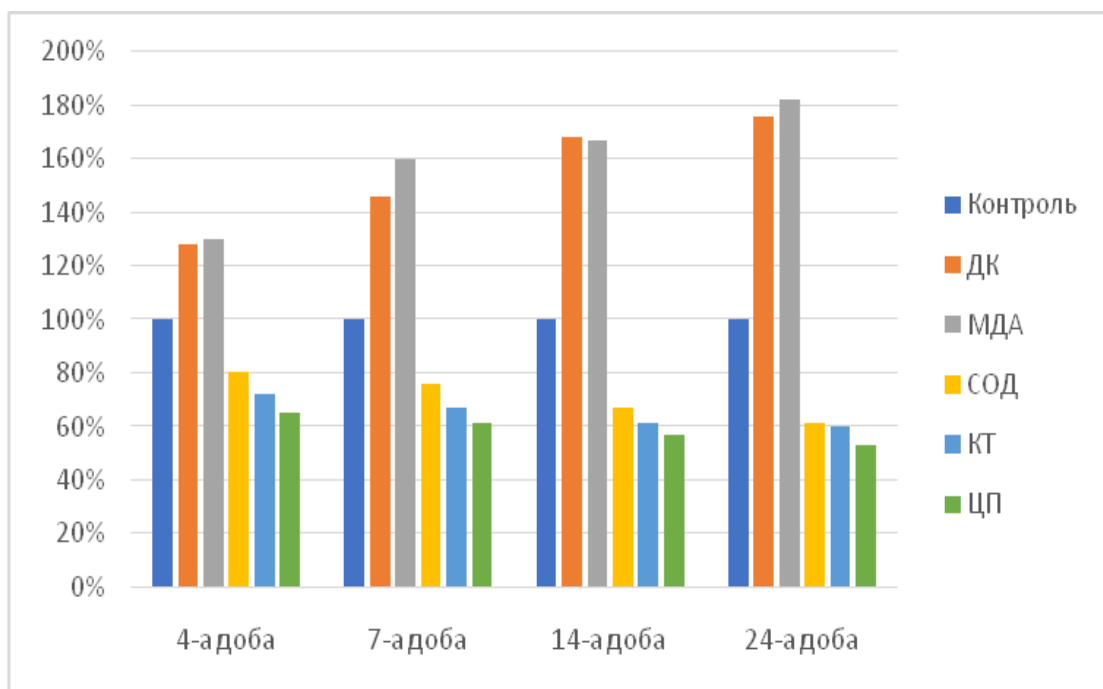


Рисунок 4.3 – Стан прооксидантної і антиоксидантної систем в легенях тварин в динаміці формування ЕАА та ЕП (у % від контролю).

Отже одержані нами результати досліджень вказують на помітні порушення метаболічних процесів, а саме розвиток оксидантного стресу, що диктує необхідність проведення фармакологічної корекції за допомогою препарату L-аргініну в умовах розвитку ЕАА та ЕП.

4.4 Вплив L-аргініну на рівень ДК і МДА та активність ферментів (СОД, КТ, ЦП) легенях тварин при експериментальному алергічному альвеоліті та експериментальному пародонтиті

Проводячи аналіз комплексних біохімічних досліджень щодо змін маркерів в системі оксиду азоту, що описані в третьому розділі дисертації та результатів порушень показників про-і антиоксидантної системи при поєднанні ЕАА і ЕП дає підстави констатувати про розвиток нітрооксидантного стресу, який посилює запальний і алергічний процеси в організмі тварин та змушує визначити і проводити патогенетичну терапію при цих експериментальних моделях хвороб.

Таблиця 4.16 - Вплив L-аргініну на вміст ДК в легенях тварин при ЕАА та ЕП (M±m)

Форма досліджу	Кількість тварин	ДК в нмоль/(г)
Інтактні морські свинки	9	12,8 ± 0,5
ЕП та ЕАА на 24-у добу експерименту (до лікування)	9	22,6 ± 0,8 p<0,05
ЕП та ЕАА на 24-у добу експерименту (після лікування L-аргініном)	9	13,7 ± 0,5 p<0,05 p1<0,05
Примітка 1. p – достовірність різниці при порівнянні ЕАА і ЕП з результатами у контрольній групі; Примітка 2. p1 – достовірність різниці при порівнянні показників до та після лікування L-аргініном (на 24-у добу ЕАА та ЕП).		

Застосування L-аргініну з 14-ої по 24-у доби експерименту за умов розвитку ЕАА асоційованого з ЕП спричиняє зниження вмісту ДК на 39,3%, МДА на 40,7% (P<0,05) та призводить до зростання активності СОД, КТ і ЦП в легенях відповідно на 44,5% (P<0,05), 55,6% (P<0,05) і 62,8% (P<0,05) відносно групи тварин на 24-у добу експерименту, яким не вводився даний лікарський середник, що свідчить про антиоксидантний вплив на порушені показники

ліпопероксидації і антиоксидантного захисту (табл. 4.16; 4.17; 4.18; 4.19; 4.20; рис. 4.4).

Таблиця 4.17 - Вплив L-аргініну на вміст МДА в легенях тварин при ЕАА та ЕП ($M \pm m$)

Форма досліджу	Кількість тварин	МДА в нмоль/(г)
Інтактні морські свинки	9	$21,7 \pm 0,7$
ЕП та ЕАА на 24-у добу експерименту (до лікування)	9	$39,5 \pm 1,3$ $p < 0,05$
ЕП та ЕАА на 24-у добу експерименту (після лікування L-аргініном)	9	$23,4 \pm 0,7$ $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$

Примітка 1. p – достовірність різниці при порівнянні ЕАА і ЕП з результатами у контрольній групі;
Примітка 2. p₁ – достовірність різниці при порівнянні показників до та після лікування L-аргініном (на 24-у добу ЕАА та ЕП).

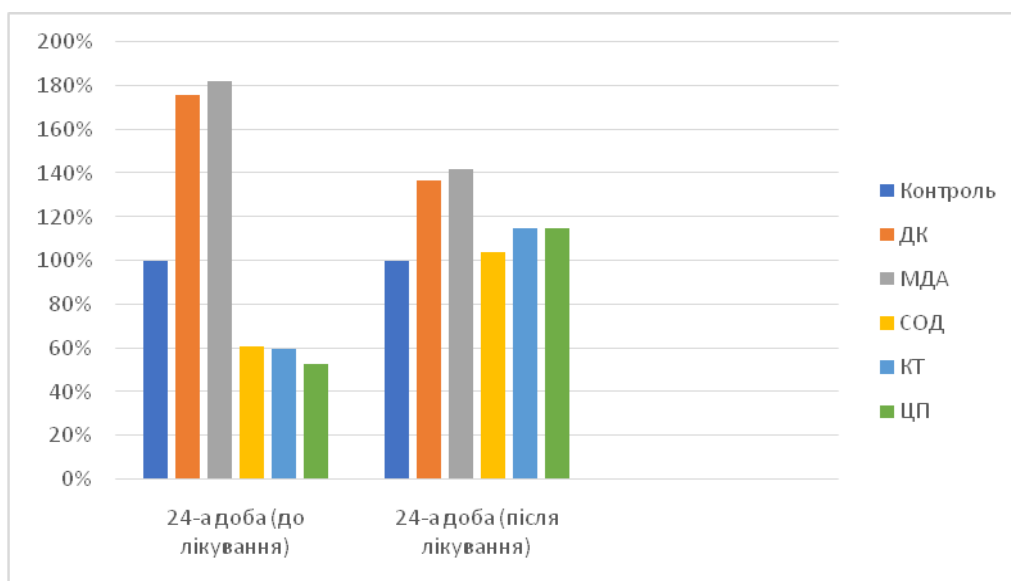


Рисунок 4.4 – Вплив антиоксиданту L-аргініну на рівень продуктів ПОЛ та активність ферментів АОС в легенях (в % на 24-ту добу до та після лікування) при ЕАА і ЕП.

Таким чином, підводячи підсумок одержаних нами результатів дослідження, можна стверджувати, що поєднаний ЕАА з ЕП зумовлюють більш суттєві метаболічні порушення щодо змін прооксидантної і антиоксидантної

системи з розвитком оксидантного стресу ніж окремо (ЕАА чи ЕП) проти контролю до лікування, а використання L-аргініну призводить до антиоксидантної дії даних порушень.

Таблиця 4.18- Вплив L-аргініну на активність СОД в легенях тварин при ЕАА та ЕП ($M \pm m$)

Форма дослідю	Кількість тварин	СОД в у.о./ (г)
Інтактні морські свинки	9	$126,9 \pm 3,4$
ЕП та ЕАА на 24-у добу експерименту (до лікування)	9	$76,4 \pm 10,1$ $p < 0,05$
ЕП та ЕАА на 24-у добу експерименту (після лікування L-аргініном)	9	$110,4 \pm 2,5$ $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$
Примітка 1. p – достовірність різниці при порівнянні ЕАА і ЕП з результатами у контрольній групі; Примітка 2. p ₁ – достовірність різниці при порівнянні показників до та після лікування L-аргініном (на 24-у добу ЕАА та ЕП).		

Таблиця 4.19 - Вплив L-аргініну на активність КТ в легенях тварин при ЕАА та ЕП ($M \pm m$)

Форма дослідю	Кількість тварин	КТ в м.о./ (г)
Інтактні морські свинки	9	$46,1 \pm 2,3$
ЕП та ЕАА на 24-у добу експерименту (до лікування)	9	$27,3 \pm 0,5$ $p < 0,05$
ЕП та ЕАА на 24-у добу експерименту (після лікування L-аргініном)	9	$42,5 \pm 2,3$ $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$
Примітка 1. p – достовірність різниці при порівнянні ЕАА і ЕП з результатами у контрольній групі; Примітка 2. p ₁ – достовірність різниці при порівнянні показників до та після лікування L-аргініном (на 24-у добу ЕАА та ЕП).		

Таблиця 4.20 - Вплив L-аргініну на вміст ЦП в легенях тварин при ЕАА та ЕП (M±m)

Форма досліджу	Кількість тварин	ЦП в мг/л
Інтактні морські свинки	9	25,1 ± 0,68
ЕП та ЕАА на 24-у добу експерименту (до лікування)	9	13,2 ± 0,2 P<0,05
ЕП та ЕАА на 24-у добу експерименту (після лікування L-аргініном)	9	21,5 ± 0,6 p<0,05, p1<0,05
Примітка 1. p – достовірність різниці при порівнянні ЕАА і ЕП з результатами у контрольній групі; Примітка 2. p1 – достовірність різниці при порівнянні показників до та після лікування L-аргініном (на 24-у добу ЕАА та ЕП).		

На основі одержаних нами результатів дослідження було зроблено наступні проміжні висновки:

1. Експериментальний алергічний альвеоліт супроводжується поступовим нагромадженням продуктів ПОЛ (ДК, МДА) на тлі компенсаторного зростання активності СОД, КТ і рівня ЦП в легенях (на 4-у, 7-у доби) з подальшим їх помітним зниженням та формування оксидантного стресу на 14-у і 24-у доби експерименту відносно контролю.

2. Експериментальний пародонтит зумовлює розвиток оксидантного стресу швидше (уже з 7-ої – 24-у доби): відбувається зростання вмісту ДК, МДА та зниження активності СОД, КТ, ЦП в легенях проти першої групи тварин.

3. ЕАА асоційований з ЕП з 4-ої доби і надалі викликають оксидантний стрес: вміст ДК, МДА прогресивно підвищується на тлі пригнічення показників АОС (СОД, КТ, ЦП) в легенях в порівнянні з контрольною групою тварин до лікування. Ці зміни були більше виражені при поєднанні ЕАА і ЕП ніж ізольовано відносно контролю.

4. Застосування L-аргініну при ЕАА і ЕП призводить до зниження рівня продуктів ПОЛ (ДК, МДА) та підвищення активності АОС (СОД, КТ, ЦП) в

легенях проти групи тварин на 24-у добу експерименту до лікування, що свідчило про його антиоксидантний вплив на порушені показники прооксидантної і антиоксидантної системи.

Результати дослідження даного розділу дисертації висвітлено в трьох наукових працях [106, 107, 185].

РОЗДІЛ 5

СТАН ЦИТОКІНОВОГО СТАТУСУ ЗА УМОВ ФОРМУВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛЕРГІЧНОГО АЛЬВЕОЛІТУ І ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПАРОДОНТИТУ ТА КОРЕКЦІЯ ЇХ ПОРУШЕНЬ L-АРГІНІНОМ

У п'ятому розділі, який містить чотири підрозділи дисертаційної роботи описані результати досліджень показників цитокінового статусу в крові тварин при ЕАА та ЕП, окремо та в їх поєднанні до та після лікування L-аргініном.

У цьому зв'язку літературні джерела вказують на те, що цитокинам, як універсальним біорегуляторам міжклітинних взаємодій при імунній відповіді, належить ключова роль у реалізації імунозапальної реакції в організмі [18, 32, 35, 136]. Власне тому підвищений синтез прозапальних чи дисбаланс опозиційних пулів цитокінів відіграє важливу роль у патогенезі різних захворювань у зв'язку із надмірною міграцією до осередку запалення ефекторних клітин [88, 97]. Це посилює патоімунний процес і спричиняє цитокіноопосередковане ураження тканинних структур органів. Саме тому цитокіновий стан сироватки крові має важливе значення для загальної характеристики імунно-запальних процесів різного генезу [11, 32, 35, 36, 37, 47, 85, 86, 87, 88].

Для цього ми проводили дослідження прозапальних (ФНП- α і IL-6) і протизапальних цитокінів (IL-10) в крові у динаміці розвитку ЕАА і ЕП на 4-у, 7-у, 14-у і 24-у доби до та після лікування L-аргініном.

Результати досліджень подані в 4 рисунках та 10 таблицях.

5.1. Рівень прозапальних і протизапальних цитокінів у крові в динаміці розвитку ЕАА

Вивчали за вмістом ФНП- α і ІЛ-6 та ІЛ-10 в крові стан прозапальних і протизапальних цитокінів у крові в динаміці (4-а, 7-а, 14-а і 24-а доби) формування ЕАА.

Встановлено, що в умовах розвитку ЕАА (4-а, 7-а, 14-а і 24-а доби) відбувалося послідовне підвищення вмісту ФНП- α в крові відповідно на 40,5%, 45,9%, 54,1%, 64,9% ($P < 0,05$) проти групи контролю, що свідчило про посилення активізації прозапального цитокіну, який збільшує імунно-запальний процес в легенях (табл. 5.1; рис. 5.1).

Таблиця 5.1. - Концентрація ФНП- α у крові морських свинок в різні періоди розвитку ЕАА ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість АА в добах	Кількість тварин	ФНП- α пг/мл
Інтактні морські свинки	Контроль	9	0,37 \pm 0,03
Тварини з ЕАА	4-а доба	9	0,52 \pm 0,05 $P < 0,05$
	7-а доба	9	0,54 \pm 0,05 $P < 0,05$
	14-а доба	9	0,57 \pm 0,06 $P < 0,05$
	24-а доба	9	0,61 \pm 0,07 $P < 0,05$

Примітка. P -достовірність різниці показників при ЕАА з результатами у контрольній групі.

Цей показник зазнав прогресуючий зростаючих величин на усіх етапах формування ЕАА, з особливою перевагою у найпізніший термін нашого спостереження (14-а, 24-а доби).

Визначення іншого прозапального пулу цитокіну у крові – ІЛ-6 було показано, що він поступово зростав, як в ранній (4-а, 7-а доби) так і в пізній (14-а, 24-а доби) періоди розвитку ЕАА відповідно на 38,6%, 40,4%, 43,9%, 47,4% ($P < 0,05$) в порівнянні з першою групою тварин (табл. 5.2; рис.5.1).

Таблиця 5.2. - Вміст ІЛ-6 у крові морських свинок в різні періоди розвитку
ЕАА (М±m)

Форма досліджу	Тривалість АА в добах	Кількість тварин	ІЛ-6 пг/мл
Інтактні морські свинки	Контроль	9	0,57±0,04
Тварини з ЕАА	4-а доба	9	0,79±0,09 P<0,05
	7-а доба	9	0,80±0,08 P<0,05
	14-а доба	9	0,82±0,09 P<0,05
	24-а доба	9	0,84±0,09 P<0,05

Примітка. P-достовірність різниці показників при ЕАА з результатами у контрольній групі.

Таблиця 5.3. - Вміст ІЛ-10 в крові в динаміці розвитку ЕАА (М±m)

Форма досліджу	Тривалість АА в добах	Кількість тварин	ІЛ-10 пг/мл
Інтактні морські свинки	Контроль	9	8,8±0,41
Тварини з ЕАА	4-а доба	9	8,6±0,41 P>0,05
	7-а доба	9	6,1±0,41 P<0,05
	14-а доба	9	5,8±0,36 P<0,05
	24-а доба	9	5,7±0,36 P<0,05

Примітка. P-достовірність різниці показників при ЕАА з результатами у контрольній групі.

Дослідження в крові ІЛ-10 при ЕАА (на 4-у добу) показало, що цей цитокін знаходився на рівні контролю. Пізніше на 7-у, 14-у і 24-у доби формування алергічного процесу спостерігалось суттєве, достовірне зниження

вмісту ІЛ-10 в крові відповідно на 30,7%, 34,1%, 35,2% ($P<0,05$) відносно першої групи тварин (табл. 5.3; рис. 5.1).

%

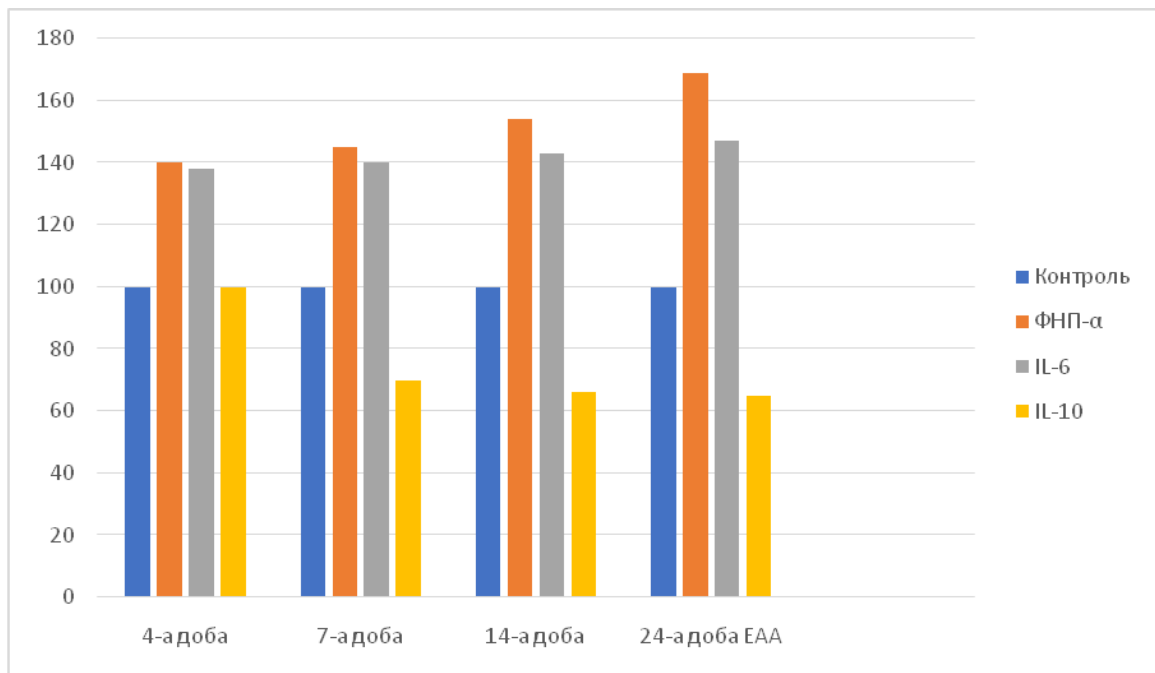


Рисунок 5.1.- Особливості змін маркерів цитокінового профілю в крові морських свинок в динаміці формування ЕАА (у % від контролю).

Таким чином, проведене імуноферментне дослідження ФНП-α, ІЛ-6 і ІЛ-10 в крові дало можливість виявити особливості змін цитокінового статусу, що проявлялося зростанням прозапальних цитокінів (ФНП-α, ІЛ-6) та зниженням протизапального цитокіну (ІЛ-10), що вказує на дисбаланс цитокінового профілю з перевагою цих змін на 14-у, і 24-у доби ЕАА та їх важливе значення для механізмів розвитку цієї імунокомплексної патології.

5.2. Рівень цитокінів у сироватці крові морських свинок в різні періоди розвитку експериментального пародонтиту (4-у, 7-у, 14-у і 24-у доби)

У стадії розвитку (4-а доба) і розпалу ЕП (7-а доба) відбувалося поступове підвищення вмісту прозапальних цитокінів, а саме ФНП-α і ІЛ-6 відповідно на 37,8%, 43,2% ($P<0,05$) і 42,1%, 43,9% ($P<0,05$) у порівнянні з

інтактними морськими свинками. У стадії реконвалесценсії (14-а доба) і репарації (24-а доба) експериментальної моделі хвороби було виявлено наростання рівня ФНП- α крові морських свинок відповідно на 48,6% і 51,4% ($P<0,05$) та ІЛ-6 відповідно на 45,6%, 49,1% ($P<0,05$) відносно контролю, що вказувало на прогресивну активізацію запального процесу в тканинах пародонта (табл. 5.4; рис. 5.2).

Таблиця 5.4. - Концентрація ФНП- α у крові морських свинок в різні періоди формування експериментального пародонтиту ($M\pm m$)

Форма досліджу	Тривалість ЕП в добах	Кількість тварин	ФНП- α пг/мл
Інтактні морські свинки	Контроль	9	0,37 \pm 0,03
Тварини з ЕП	4-а доба	9	0,51 \pm 0,05 $P<0,05$
	7-а доба	9	0,53 \pm 0,05 $P<0,05$
	14-а доба	9	0,55 \pm 0,06 $P<0,05$
	24-а доба	9	0,56 \pm 0,06 $P<0,05$

Примітка. Р-достовірність різниці показників при ЕП з результатами у контрольній групі.

Визначення одного з важливих цитокінів, що відноситься до протизапального пулу - ІЛ-10 в крові в динаміці розвитку ЕП (4-а, 7-а, 14-а і 24-а доби) показало його протилежні зміни, а саме суттєве послідовне зниження відповідно на 31,8%, 32,9%, 34,1%, 36,4% ($P<0,05$) в порівнянні з інтактною групою тварин (табл. 5.6; рис. 5.2).

Таблиця 5.5. - Вміст ІЛ-6 у крові морських свинок в різні періоди формування експериментального пародонтиту ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість ЕП в добах	Кількість тварин	ІЛ-6 пг/мл
Інтактні морські свинки	Контроль	9	0,57±0,04
Тварини з ЕП	4-а доба	9	0,81±0,08 P<0,05
	7-а доба	9	0,82±0,09 P<0,05
	14-а доба	9	0,83±0,09 P<0,05
	24-а доба	9	0,85±0,09 P<0,05

Примітка. Р-достовірність різниці показників при ЕП з результатами у контрольній групі.

Таблиця 5.6. - Рівень ІЛ-10 у крові морських свинок в різні періоди формування експериментального пародонтиту ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість ЕП в добах	Кількість тварин	ІЛ-10 пг/мл.
Інтактні морські свинки	Контроль	9	8,8±0,41
Тварини з ЕП	4-а доба	9	6,0±0,41 P<0,05
	7-а доба	9	5,9±0,36 P<0,05
	14-а доба	9	5,8±0,36 P<0,05
	24-а доба	9	5,6±0,35 P<0,05

Примітка. Р-достовірність різниці показників при ЕП з результатами у контрольній групі.

Таким чином, проведені імуноферментні дослідження показали розвиток дисбалансу між прозапальними (ФНП- α , ІЛ-6 – зростали) та протизапальними цитокінами (ІЛ-10) в крові – знижувався на усіх етапах формування ЕП з

особливою перевагою у пізній період 14-а, 24-а доби цієї експериментальної моделі хвороби, що вказувало на їх важливу роль у механізмах розвитку ЕП.

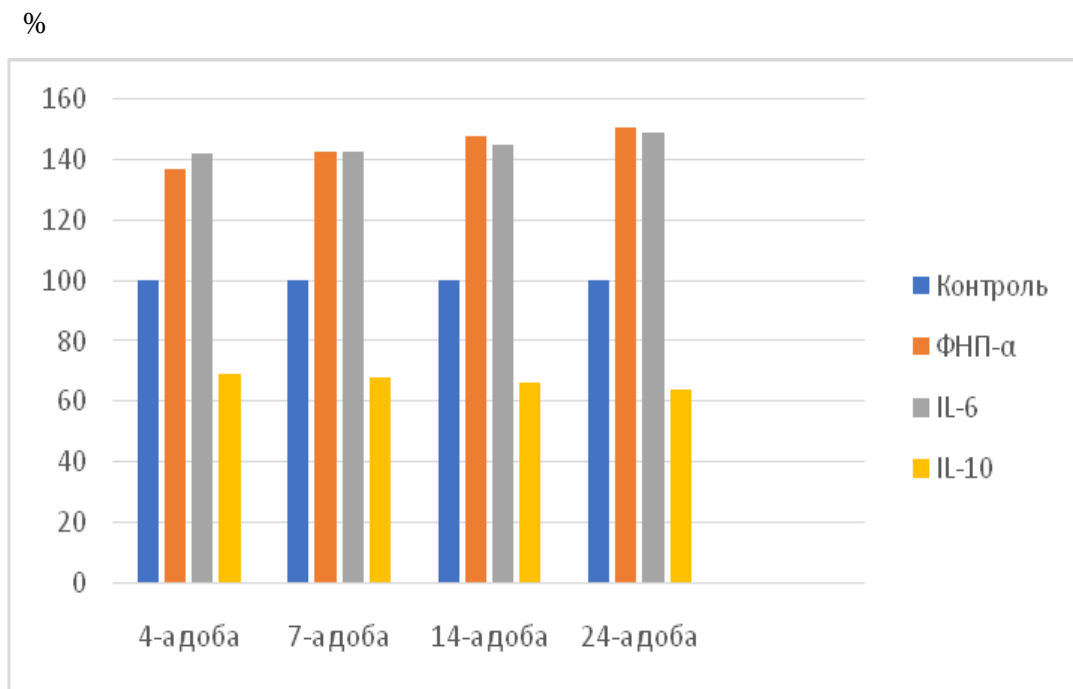


Рисунок 5.2. -Особливості змін показників цитокінового профілю в крові морських свинок в динаміці формування ЕП (% від контролю).

5.3. Рівень цитокінів у крові в динаміці розвитку поєднаного ЕАА і ЕП

ЕАА, що асоційований з ЕП на 4-у, 7-у, 14-у і 24-у доби експерименту супроводжувався помітним зростанням вмісту ФНП-α в крові відповідно на 70,3%, 75,7% і 83,8%, 89,2% ($P < 0,05$) проти контролю (табл. 5.7., рис. 5.3).

Дослідження рівня ІЛ-6 у крові у ранній період розвитку ЕАА і ЕП (4-а, 7-а доби) виявило тенденцію до поступового його зростання відповідно на 50,9%, 59,6% ($P < 0,05$) проти контролю, яка зберігалася і на пізніших етапах цієї коморбідної патології. Зокрема, цей показник підвищувався відповідно на 68,4%, 71,9% ($P < 0,05$) на 14-у і 24-у доби формування ЕП і ЕАА у порівнянні з інтактними тваринами (табл. 5.8; рис. 5.3).

Як видно з отриманих нами результатів дослідження рівень ІЛ-6 досягав свого апогею на 24-у добу.

Таблиця 5.7.- Концентрація ФНП- α у крові морських свинок в різні періоди формування ЕАА та експериментального пародонтиту ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість ЕАА і ЕП в добах	Кількість тварин	ФНП- α пг/мл
Інтактні морські свинки	Контроль	9	0,37 \pm 0,03
Тварини з ЕАА та ЕП до лікування	4-а доба	9	0,63 \pm 0,07 P<0,05
	7-а доба	9	0,65 \pm 0,08 P>0,05
	14-а доба	9	0,68 \pm 0,09 P<0,05
	24-а доба	9	0,70 \pm 0,09 P<0,05

Примітка. P-достовірність різниці показників при порівнянні ЕП та ЕАА з результатами у контрольній групі.

Таблиця 5.8.- Вміст ІЛ-6у крові морських свинок в різні періоди формування ЕАА та експериментального пародонтиту ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість ЕАА і ЕП в добах	Кількість тварин	ІЛ-6 пг/мл
Інтактні морські свинки	Контроль	9	0,57 \pm 0,04
Тварини з ЕАА та ЕП до лікування	4-а доба	9	0,86 \pm 0,09 P<0,05
	7-а доба	9	0,91 \pm 0,09 P>0,05
	14-а доба	9	0,96 \pm 0,09 P<0,05
	24-а доба	9	0,98 \pm 0,09 P<0,05

Примітка. P-достовірність різниці показників припорівнянні ЕП та ЕАА з результатами у контрольній групі.

Вивчення рівня ІЛ-10 в крові в динаміці розвитку поєднаних патологічних процесів – ЕП і ЕАА (4-а, 7-а, 14-а і 24-а доби) показало його помітне послідовне зниження відповідно на 40,9%, 42,1%, 43,2%, 44,3% ($P < 0,05$) в порівнянні з першою групою морських свинок (табл. 5.9; рис. 5.3).

Таблиця 5.9.- Рівень ІЛ-10у крові морських свинок в різні періоди формування ЕАА та експериментального пародонтиту ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість ЕАА і ЕП в добах	Кількість тварин	ІЛ-10 пг/мл
Інтактні морські свинки	Контроль	9	$8,8 \pm 0,41$
Тварини з ЕАА та ЕП до лікування	4-а доба	9	$5,2 \pm 0,32$ $P < 0,05$
	7-а доба	9	$5,1 \pm 0,31$ $P > 0,05$
	14-а доба	9	$5,0 \pm 0,31$ $P < 0,05$
	24-а доба	9	$4,9 \pm 0,31$ $P < 0,05$

Примітка. Р-достовірність різниці показників припорівнянні ЕП та ЕАА з результатами у контрольній групі.

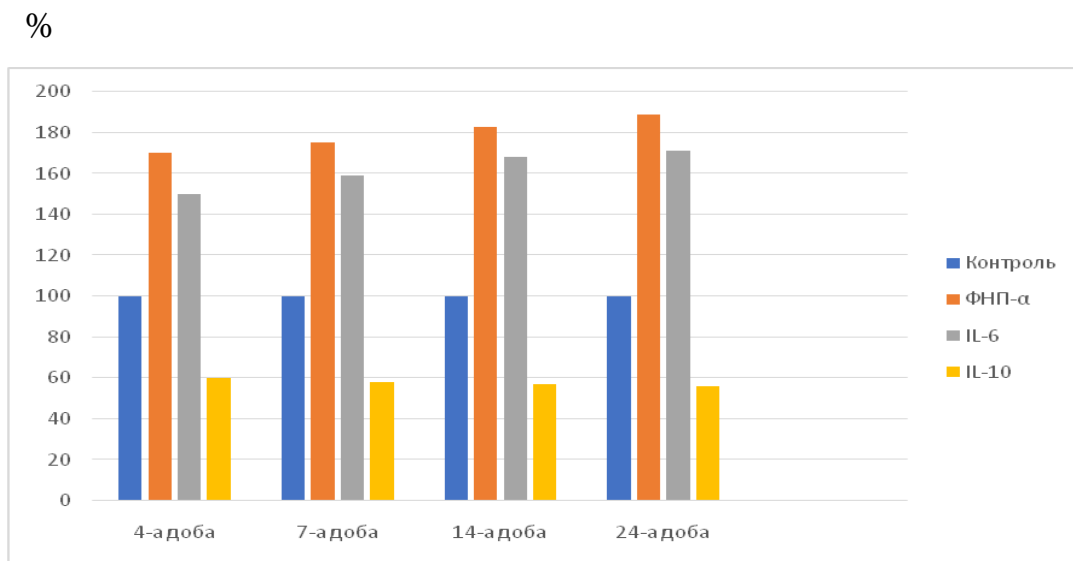


Рисунок 5.3.- Порухення вмісту цитокінів у крові в динаміці розвитку ЕАА і ЕП(% від контролю).

Таким чином, як показують одержані результати наших досліджень, що ЕАА асоційований з ЕП зумовлюють більш виражений дисбаланс цитокінового статусу, ніж окремо (ЕП або ЕАА), проти контролю. Це має важливе значення для ширшого розуміння цитокінових механізмів їх розвитку і служить основою для обґрунтування і розробки патогенетичної терапії, а саме застосування L-аргініну.

5.4. Вплив L-аргініну на рівень цитокінів у крові при ЕАА і ЕП

У третьому підрозділі п'ятого розділу дисертаційної роботи було встановлено, що ЕАА асоційований з ЕП супроводжується порушення цитокіногенезу. А саме проявляється зростанням рівня прозапальних цитокінів на тлі зниження протизапального цитокіну з перевагою на 14-у і 24-у доби експерименту (до лікування) проти контролю і свідчить про активний, посилений їх вплив на перебіг цих експериментальних моделей хвороб та наявність цитокіноопосередкованого механізму пошкодження клітин.

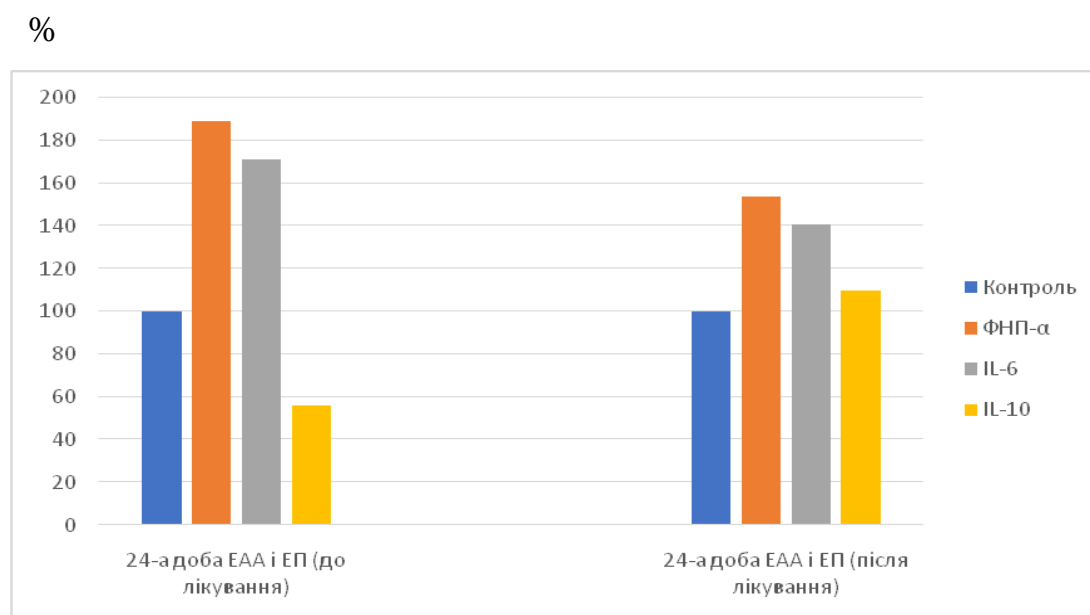


Рисунок 5.4. - Вплив L-аргініну на порушені показники цитокінів у крові при ЕАА і ЕП на 24-у добу експерименту (% порівняння до та після лікування).

Застосування препарату L-аргініну тваринам з ЕАА і ЕП призводило до зниження вмісту ФНП- α і ІЛ-6 в крові відповідно на 35,7%, 30,6% ($P < 0,05$) та підвищення рівня ІЛ-10 в крові на 55,1% ($P < 0,05$) в порівнянні з групою морських свинок з цими моделями хвороби (на 24-у добу) без впливу цього лікарського середника, що вказувало на позитивний цитокінокоригуючий вплив його на порушені маркери цитокінового статусу (табл. 5.10; рис. 5.4).

Таблиця 5.10.- Вплив L-аргініну на порушені показники цитокінів у крові (ФНП- α , ІЛ-6, ІЛ-10) при ЕАА і ЕП ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість експерименту	Кількість тварин	ФНП- α пг/мл	ІЛ-6 пг/мл	ІЛ-10 пг/мл
Інтактні морські свинки	Контроль	9	0,37 \pm 0,03	0,57 \pm 0,04	8,8 \pm 0,41
Тварини з ЕАА та ЕП на 24-у добу (до лікування)	24-а доба	9	0,70 \pm 0,09 $P < 0,05$	0,98 \pm 0,09 $P < 0,05$	4,9 \pm 0,31 $P < 0,05$
Тварини з ЕАА та ЕП на 24-у добу (після лікування)	24-а доба	9	0,45 \pm 0,05 $P < 0,05$ $P_1 < 0,05$	0,68 \pm 0,07 $P < 0,05$ $P_1 < 0,05$	7,6 \pm 0,44 $P < 0,05$ $P_1 < 0,05$

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

Примітка 2. p_1 – достовірність різниці при порівнянні показників (на 24-у добу ЕП і ЕАА) до та після лікування L-аргініном.

Таким чином, поєднаний ЕАА з ЕП викликає суттєві порушення дисбалансу цитокінового статусу ніж окремо, що проявлявся зростанням вмісту

прозапальних цитокінів на тлі зниження протизапального цитокіну в крові до лікування відносно контролю.

Використання L-аргініну з лікувальною метою спричиняв цитокінокоригувальний ефект на порушені маркери цитокінового профілю за умов розвитку ЕАА і ЕП на 24-у добу експерименту.

Узагальнюючи одержані нами результати досліджень у цьому розділі дисертаційної роботи можна зробити такі проміжні висновки:

1. Маніфестація ЕАА зумовлює поступове зростання вмісту ФНП- α , ІЛ-6 на усіх етапах його розвитку на тлі зниження рівня ІЛ-10 в крові починаючи з 7-ої доби експерименту відносно контрольної групи з найбільшим ступенем вираження на 14-у, 24-у доби експерименту. Виняток становила група тварин з ЕАА на 4-у добу в яких показник ІЛ-10 не зазнав достовірних змін проти інтактних тварин.

2. Впродовж усіх етапів дослідження (4-а, 7-а, 14-а, 24-а доби) ЕП відбувався дисбаланс цитокінового статусу: поетапно підвищувався рівень ФНП- α і ІЛ-6 в умовах зниження концентрації ІЛ-10 в крові з домінуванням на 14-у, а особливо на 24-у добу цієї експериментальної моделі хвороби проти першої групи тварин.

3. ЕАА асоційований з ЕП (4-а, 7-а, 14-а, 24-а доби) супроводжується найбільшим помітним порушенням цитокіногенезу ніж окремо (ЕП або ЕАА), а саме зниженням рівня ІЛ-10 та підвищенням концентрації ІЛ-6 і ФНП- α в крові з перевагою на 24-у добу експерименту проти контролю до лікування.

4. Застосування L-аргініну призводило до цитокінокоригуючого впливу, що проявлялося зниженням прозапальних (ФНП- α , ІЛ-6) та підвищенням рівня ІЛ-10 в крові на 24-у добу експерименту поєданого ЕАА і ЕП в порівнянні з групою тварин, яким відтворювали дані моделі хвороб, але не піддавалися дії цього лікарського засобу.

Результати дослідження цього розділу дисертації висвітлені в двох наукових працях [95, 108].

РОЗДІЛ 6

ОСОБЛИВОСТІ ЗМІН ІМУННОЇ СИСТЕМИ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛЕРГІЧНОГО АЛЬВЕОЛІТУ І ПАРОДОНТИТУ ТА КОРЕКЦІЯ ЇХ L-АРГІНІНОМ

У шостому розділі дисертації, який містить чотири підрозділи висвітлюються питання щодо особливостей порушень імунного гомеостазу при поєднаній патології (ЕАА і ЕП) та окремо до та після корекції L-аргініном.

Літературні джерела свідчать про те, що ключовими елементами імунної системи є дві великі популяції – Т і В-лімфоцитів і їх розрізняють за молекулярними основами розпізнавання антигенів та за виконанням ефекторних функцій в імунітеті [32, 37, 56, 59, 89, 90, 96, 103, 104, 119, 125]. Тому від стану імунної системи, і її адаптаційних спроможностей залежить адекватність реагування організму на генетично чужорідні агенти та вірогідність розвитку інфекційних, алергічних і аутоімунних захворювань [71, 72, 78, 79, 99, 101, 120, 121, 123, 124]. Аналізуючи вищенаведене можна стверджувати, що імунна система відіграє важливу роль в організмі і може зазнавати помітних змін при різних захворюваннях, як алергічного так і запального характеру.

Тому метою нашого дослідження було з'ясувати особливості порушень показників імунітету при ЕАА та в поєднанні з ЕП до та після застосування L-аргініну.

Результати досліджень шостого розділу дисертаційної роботи висвітлені в 12 таблицях і 4 рисунках.

6.1. Роль імунної системи у формуванні експериментального алергічного альвеоліту

Результати імунологічних досліджень показали, що на 4-у добу розвитку ЕАА вміст Т-лімфоцитів у крові не зазнавав достовірних змін, він знаходився на рівні контролю (табл. 6.1; рис. 6.1).

Таблиця 6.1.- Вміст Т-лімфоцитів у крові тварин при ЕАА ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість АА в добах	Кількість тварин	Т-лімфоцити в %
Інтактні морські свинки	Контроль	9	46,3±3,1
Тварини з ЕАА	4-а доба	9	46,2±3,1 P>0,05
	7-а доба	9	35,2±2,8 P<0,05
	14-а доба	9	34,1±2,6 P<0,05
	24-а доба	9	33,0±2,4 P<0,05

Примітка. P-достовірність різниці показників при ЕАА в порівнянні з результатами у контрольній групі.

В інші терміни нашого спостереження (7-а, 14-а, 24-а доби) ЕАА відбувалося поступове зниження концентрації Т-лімфоцитів у крові відповідно на 23,9%, 26,3%, 28,7% (P<0,05) в порівнянні з першою групою тварин, що свідчило про пригнічення клітинної ланки імунітету, яке було найбільше виражено на 24-у добу експерименту (табл. 6.1; рис. 6.1).

Дослідження вмісту В-лімфоцитів у крові на 4-у добу формування ЕАА показало, що цей показник був на рівні інтактної групи тварин (табл. 6.2; рис. 6.1).

Подальше вивчення особливостей змін вмісту В-лімфоцитів у крові, а саме на 7-у, 14-у і 24-у доби ЕАА дало змогу встановити його зростання відповідно на 20,5%, 23,7%, 33,5% (P<0,05) у порівнянні з контролем (табл. 6.2; рис. 6.1).

Визначення загальних ЦІК на різних етапах моделювання ЕАА (4-а, 7-а, 14-а, 24-а доби) виявило зрушення у бік прогресуючого зростання даного маркера відповідно на 25,6%, 28,8%, 29,6%, 32,5% ($P < 0,05$) проти першої групи тварин, що свідчило про участь одного з імунокомплексних механізмів (ІІІ тип алергічних реакцій) розвитку цієї імунокомплексної патології (табл. 6.2; рис. 6.1).

Таблиця 6.2.- Рівень В-лімфоцитів у крові морських свинок при ЕАА ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість АА в добах	Кількість тварин	В-лімфоцити в %
Інтактні морські свинки	4-а доба	9	15,6±1,4
Тварини з ЕАА	7-а доба	9	15,9±1,4 $P > 0,05$
	14-а доба	9	18,8±1,6 $P < 0,05$
	24-а доба	9	19,3±1,8 $P < 0,05$
	4-а доба	9	20,82±2,1 $P < 0,05$

Примітка. P -достовірність різниці показників при ЕАА в порівнянні з результатами у контрольній групі.

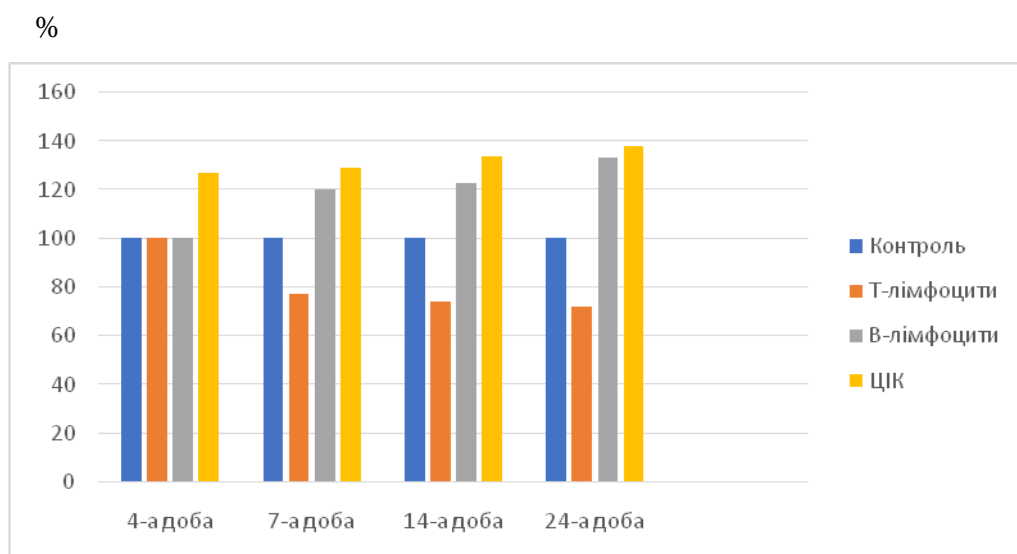


Рисунок 6.1.- Стан імунної системи при ЕАА (% від контролю).

Таблиця 6.3.–Рівень ЦК в крові в динаміці розвитку ЕАА (М±m)

Форма досліджу	Тривалість АА в добах	Кількість тварин	ЦК в од. опт. щ.
Інтактні морські свинки	Контроль	9	37,9±1,7
Тварини з ЕАА	4-а доба	9	48,4±1,9 P<0,05
	7-а доба	9	49,2±1,9 P<0,05
	14-а доба	9	50,9±2,1 P<0,05
	24-а доба	9	52,4±2,8 P<0,05

Примітка. P-достовірність різниці показників при ЕАА в порівнянні з результатами у контрольній групі.

Отже, проведені та проаналізовані нами імунологічні зміни дають підставу вважати, що ЕАА супроводжується підвищенням вмісту В-лімфоцитів і ЦК на тлі зниження рівня Т-лімфоцитів крові на усіх етапах нашого спостереження відносно контролю, за винятком групи тварин з ЕАА щодо змін Т і В-лімфоцитів на 4-у добу, де ці показники не зазнавали змін та свідчать про участь імунної системи у механізмах розвитку цієї імунокомплексної патології.

6.2. Стан імунного гомеостазу за умов розвитку експериментального пародонтиту

За визначенням вмісту Т і В-лімфоцитів та ЦК з'ясовували особливості їх змін в динаміці формування ЕП. Було встановлено, що як у ранній (4-а, 7-а доба) так і в пізній (14-а, 24-а доби) періоди ЕП, що вміст Т-лімфоцитів в крові знижувався відповідно на 20,5%, 30,0%, 27,2%, 25,3% (P<0,05) у порівнянні з групою контрольних тварин(табл. 6.4; рис. 6.2).

Таблиця 6.4. - Рівень Т-лімфоцитів в крові тварин при ЕП ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість ЕП в добах	Кількість тварин	Т-лімфоцити в %
Інтактні морські свинки	Контроль	9	46,3±3,1
Тварини з ЕП	4-а доба	9	36,8±2,9 P<0,05
	7-а доба	9	32,5±2,4 P<0,05
	14-а доба	9	33,7±2,4 P<0,05
	24-а доба	9	34,6±2,5 P<0,05

Примітка. P-достовірність різниці показників при ЕП в порівнянні з результатами у контрольній групі.

Таблиця 6.5. - Вміст В-лімфоцитів у крові морських свинок при ЕП ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість ЕП в добах	Кількість тварин	В-лімфоцити в %
Інтактні морські свинки	Контроль	9	15,6±1,4
Тварини з ЕП	4-а доба	9	18,3±1,7 P<0,05
	7-а доба	9	20,7±2,1 P<0,05
	14-а доба	9	19,9±2,1 P<0,05
	24-а доба	9	19,6±2,1 P<0,05

Примітка. P-достовірність різниці показників при ЕП в порівнянні з результатами у контрольній групі.

Одержані нами результати досліджень свідчать, що стабільне зниження функціональних можливостей Т-клітин імунітету, яке домінувало найбільше на 7-у добу ЕП, що відповідало стадії розпалу хвороби відносно першої групи тварин.

Визначення концентрації В-лімфоцитів у крові на 4-, 7-у, 14-у і 24-у доби ЕП показало перманентне зростання відповідно на 17,3%, 32,7%, 27,6%, 25,6% ($P<0,05$) проти контрольної групи тварин, що вказувало на стимуляцію гуморального імунітету (табл. 6.5; рис. 6.2).

%

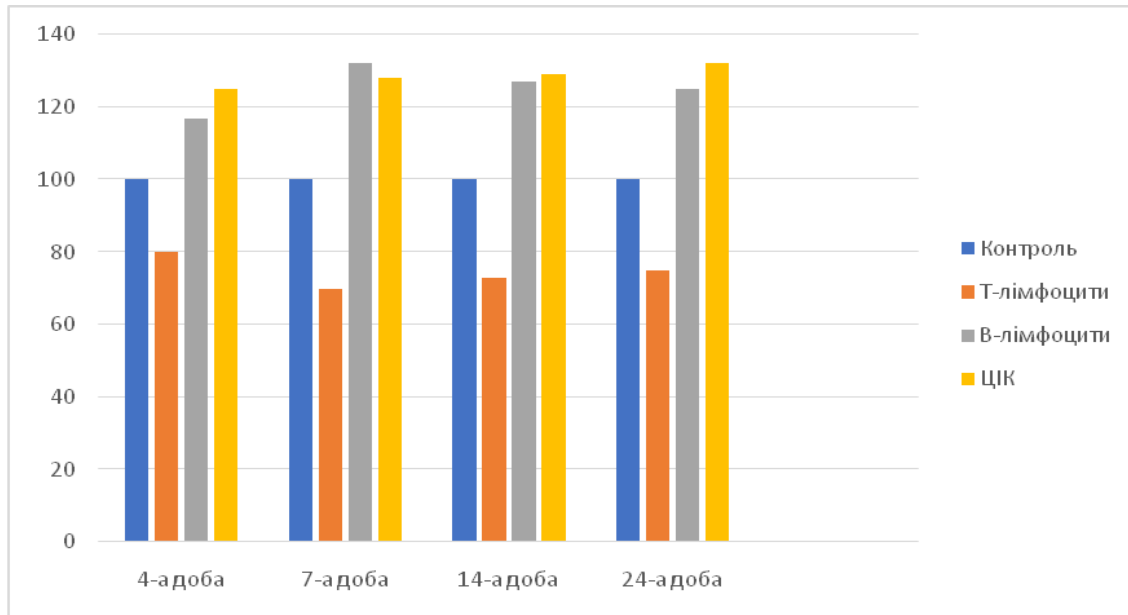


Рисунок 6.2. - Стан імунної системи при ЕП (% від контролю)

Таблиця 6.6. - Концентрація ЦІК в крові при ЕП ($M \pm m$)

Форма дослідю	Тривалість ЕП в добах	Кількість тварин	ЦІК в од. опт. щ.
Інтактні морські свинки	Контроль	9	$37,9 \pm 1,7$
Тварини з ЕП	4-а доба	9	$47,6 \pm 1,7$ $P < 0,05$
	7-а доба	9	$48,8 \pm 1,8$ $P < 0,05$
	14-а доба	9	$49,1 \pm 1,9$ $P < 0,05$
	24-а доба	9	$50,2 \pm 2,1$ $P < 0,05$

Примітка. Р-достовірність різниці показників при ЕП в порівнянні з результатами у контрольній групі.

Дослідження загального вмісту ЦІК у крові в динаміці (4-а, 7-а, 14-а, 24-а доби) формування ЕП було з'ясовано, що запальний процес в тканинах пародонту зумовлює постійне підвищення рівня ЦІК відповідно на 25,6%, 28,8%, 29,6%, 32,5% ($P < 0,05$) відносно інтактної групи тварин, що свідчить про їх участь в механізмах його розвитку (табл. 6.6; рис. 6.2).

Таким чином, підсумовуючи одержані нами результати імунологічних досліджень можна констатувати, що впродовж усіх етапів нашого спостереження відносно ЕП відбувалося підвищення рівня В-лімфоцитів і ЦІК та зниження концентрації Т-лімфоцитів у крові, що свідчило про пригнічення клітинного в умовах стимуляції гуморального імунітету та їх активну участь в патогенезі розвитку ЕП. Зазначені порушення маркерів імунного гомеостазу в крові були найпомітніше виражені на 7-у добу та 24-у доби експерименту відносно контролю, що відповідало стадіям розпалу і репарації хвороби.

6.3. Стан імунної системи при поєднанні ЕАА і ЕП

Особливий інтерес для нас представляв даний розділ дисертаційної роботи, тому що зміни показників імунної системи за умов формування ізольованих хвороб, а саме ЕАА так і при ЕП відомі, проте в поєднанні алергічного альвеоліту з пародонтитом не з'ясовані. У зв'язку з тим метою даного підрозділу було вивчити особливості порушень маркерів імунного гомеостазу за умов поєднання ЕАА з ЕП на 4-у, 7-, 14-у і 24-у доби експерименту до лікування [].

Нами було виявлено, що поєднаний ЕАА та ЕП супроводжуються помітними зрушеннями, як показників клітинного так і гуморального імунітету. Зокрема встановлено з перших днів нашого спостереження і надалі (4-а, 7-а, 14-а і 24-а доби), ЕАА і ЕП відбувалося помітне послідовне зниження рівня Т-лімфоцитів у крові відповідно на 24,2%, 32,2%, 36,3%, 40,8% ($P < 0,05$) проти контролю, що свідчило про депресію клітинної ланки імунітету, яке особливо

переважало у найпізніший термін (14-а, 24-а доби) нашого дослідження (табл. 6.7; рис. 6.3).

Таблиця 6.7 - Рівень Т-лімфоцитів у крові тварин при ЕАА та ЕП ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість АА і ЕП в добах	Кількість тварин	Т-лімфоцити в %
Інтактні морські свинки	Контроль	9	46,3±3,1
Тварини з ЕАА та ЕП	4-а доба	9	35,1±2,4 P<0,05
	7-а доба	9	31,4±2,3 P<0,05
	14-а доба	9	29,5±2,4 P<0,05
	24-а доба	9	27,4±2,2 P<0,05

Примітка. P-достовірність різниці показників при ЕАА та ЕП в порівнянні з результатами у контрольній групі.

Таблиця 6.8. - Вміст В-лімфоцитів у крові морських свинок при ЕАА та ЕП ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість АА і ЕП в добах	Кількість тварин	В-лімфоцити в %
Інтактні морські свинки	Контроль	10	15,6±1,4
Тварини з ЕАА та ЕП	4-а доба	9	19,4±2,1 P<0,05
	7-а доба	9	21,8±2,3 P<0,05
	14-а доба	9	24,9±2,8 P<0,05
	24-а доба	9	28,7±3,1 P<0,05

Примітка. P-достовірність різниці показників при ЕАА та ЕП в порівнянні з результатами у контрольній групі.

Продовження вивчення іншого показника імунної системи, а саме вмісту В-лімфоцитів в процесі маніфестації (4-а, 7-а, 14-а, 24-а доби) ЕАА асоційованого з ЕП показало про активізацію В-лімфоцитів у крові, вони зростали відповідно на 24,4%, 39,7%, 59,6%, 84,0% ($P < 0,05$) в порівнянні з першою групою тварин (табл. 6.8; рис. 6.3).

Одержані нами дані вказують на те, що рівень В-лімфоцитів зростав стабільно на усіх періодах розвитку поєднаних експериментальних моделях хвороби з домінуванням на 24-у добу експерименту і вказувало на інтенсивний антигенний вплив на гуморальний імунітет.

Важливим показником імунної системи за яким ми проводили характеристику щодо їх змін при даній коморбідній патології були циркулюючі імунні комплекси.

Нами виявлено суттєве, достовірне підвищення вмісту ЦІК у крові відповідно на 33,8%, 50,1%, 60,0% і 70,2% ($P < 0,05$) у тварин з поєднаною патологією (4-а, 7-а, 14-а, 24-а доби) відносно контролю (табл. 6.9; рис. 6.3).

Таблиця 6.9. - Рівень ЦІК в крові при ЕАА та ЕП ($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість АА і ЕП в добах	Кількість тварин	ЦІК в од. опт. щ.
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$37,9 \pm 1,7$
Тварини з ЕАА та ЕП	4-а доба	9	$50,7 \pm 2,2$ $P < 0,05$
	7-а доба	9	$56,9 \pm 2,4$ $P < 0,05$
	14-а доба	9	$60,5 \pm 2,7$ $P < 0,05$
	24-а доба	9	$64,5 \pm 3,4$ $P < 0,05$

Примітка. Р-достовірність різниці показників при ЕАА та ЕП в порівнянні з результатами у контрольній групі.

Аналізуючи отримані нами результати імунологічних досліджень можна стверджувати, що поєднаний ЕАА і ЕП зумовлюють поступові порушення показників імунної системи, як клітинної, що знижувалися в крові, так і гуморальної її ланок, були підвищеними та вказують на важливу участь імунної системи в патогенезі розвитку даних коморбідних патологій, а саме ЕАА і ЕП та створюють певні передумови для обґрунтування та забезпечення використання лікарських засобів з метою їх корекції.

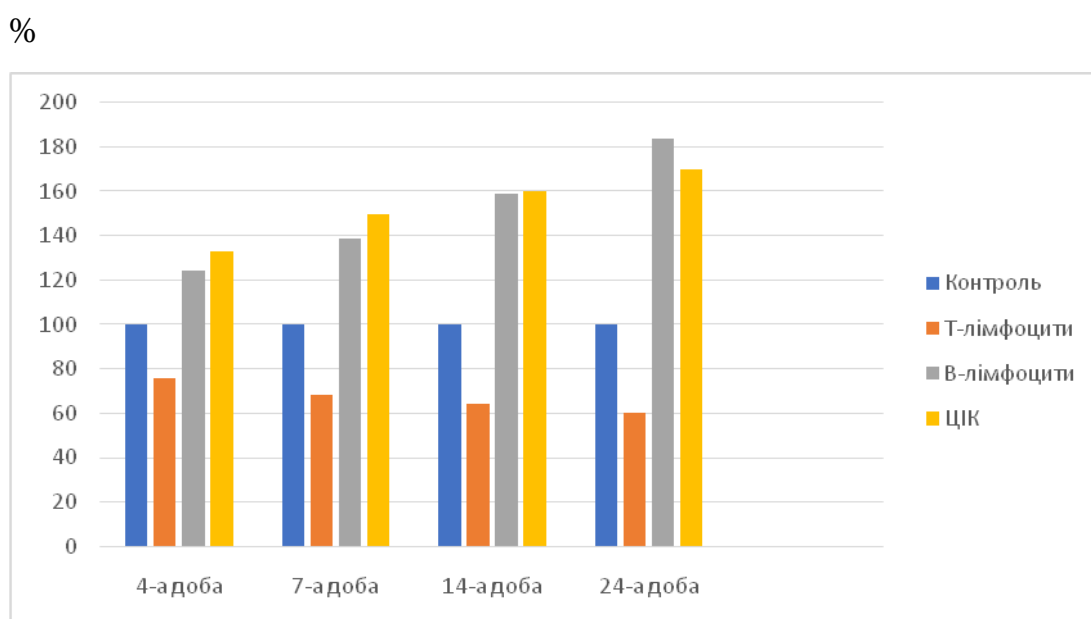


Рисунок 6.3. - Стан імунної системи при поєднанні ЕАА та ЕП (% від контролю).

Таким чином, проведені нами комплексні імунологічні дослідження дозволяють констатувати, що ЕАА асоційований з ЕП спричиняють більше виражені порушення імунних процесів ніж окремо (ЕП або ЕАА) у порівнянні з контролем і підтверджують значну роль у механізмах розвитку експериментальних моделей хвороб.

6.4.Коригуючий вплив L-аргініну на порушені показники імунної системи при ЕАА асоційованого з ЕП

Результати наших імунологічних досліджень дають підставу зробити висновок про те, що ЕАА поєднаний з ЕП викликають помітні порушення показників імунної системи, а саме підвищення маркерів гуморальної ланки імунітету в умовах суттєвої депресії клітинного імунітету до терапії та їх корекція за допомогою L-аргініну.

Застосування L-аргініну призводив до підвищення рівня Т-лімфоцитів у крові на 54,3% ($P < 0,05$) проти групи тварин з ЕАА та ЕП на 24-у добу без корекції, що свідчило про його імунокоригуючу дію даного лікарського засобу (табл. 6.10; рис. 6.4).

Використання препарату L-аргініну тваринам з ЕАА і ЕП (на 24-у добу) зумовлював зниження концентрації В-лімфоцитів у крові на 37,9% ($P < 0,05$) та ЦІК на 35,6% ($P < 0,05$) в порівнянні з групою морських свинок з даними експериментальними моделями хвороб, які не піддавалися впливу цього лікарського середника (табл. 6.10; рис. 6.4).

Одержані нами результати досліджень вказують на імунокоригуючу дію препарату L-аргініну на порушені маркери, як гуморального так і клітинного імунітету за умов розвитку ЕАА разом з ЕП на 24-у добу експерименту.

Таблиця 6.10. - Вплив L-аргініну на вміст Т-лімфоцитів у крові при ЕАА та ЕП
($M \pm m$)

Форма досліджу	Тривалість ЕАА і ЕП в добах	Кількість тварин	Т-лімфоцити в %
Інтактні морські свинки	Контроль	9	46,3 \pm 3,1
Тварини з ЕАА та ЕП до лікування	24-а доба	9	27,4 \pm 2,2 $P < 0,05$
Тварини з ЕАА та ЕП після лікування	24-а доба	9	42,3 \pm 2,9 $P_1 < 0,05$

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

Примітка 2. p_1 – достовірність різниці при порівнянні показників до та після лікування L-аргініном (на 24-у добу ЕП і ЕАА).

Таблиця 6.11. - Коригуючий вплив L-аргініну на рівень В-лімфоцити у крові
ЕАА та ЕП (M±m)

Форма досліджу	Тривалість ЕАА і ЕП в добах	Кількість тварин	В-лімфоцити в %
Інтактні морські свинки	Контроль	9	15,6±1,4
Тварини з ЕАА та ЕП до лікування	24-а доба	9	28,7±3,1 P<0,05
Тварини з ЕАА та ЕП після лікування	24-а доба	9	17,8±1,7 P ₁ <0,05

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

Примітка 2. p₁ – достовірність різниці при порівнянні показників до та після лікування L-аргініном(на 24-у добу ЕП і ЕАА).

Таблиця 6.12. - Вплив L-аргініну на рівень ЦІК в крові при ЕАА та ЕП (M±m)

Форма досліджу	Тривалість ЕАА і ЕП в добах	Кількість тварин	ЦІК в од. опт. щ.
Інтактні морські свинки	Контроль	10	37,9±1,7
Тварини з ЕАА та ЕП до лікування	24-а доба	10	64,5±3,4 P<0,05
Тварини з ЕАА та ЕП після лікуванняL- аргініном	24-а доба	10	41,5±1,8 P ₁ <0,05

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

Примітка 2. p₁ – достовірність різниці при порівнянні показників до та після лікування L-аргініном (на 24-у добу ЕП і ЕАА).

Таким чином, підводячи підсумок одержаних нами імунологічних досліджень за умов розвитку ЕАА і ЕП, як окремо так і в їх поєднанні можна констатувати, що коморбідна патологія зумовлює більше виражені порушення імунної системи ніж ізольовано проти контрольної групи тварин та вказує на участь одного з провідних ролей її в патогенезі розвитку ЕП і ЕАА.

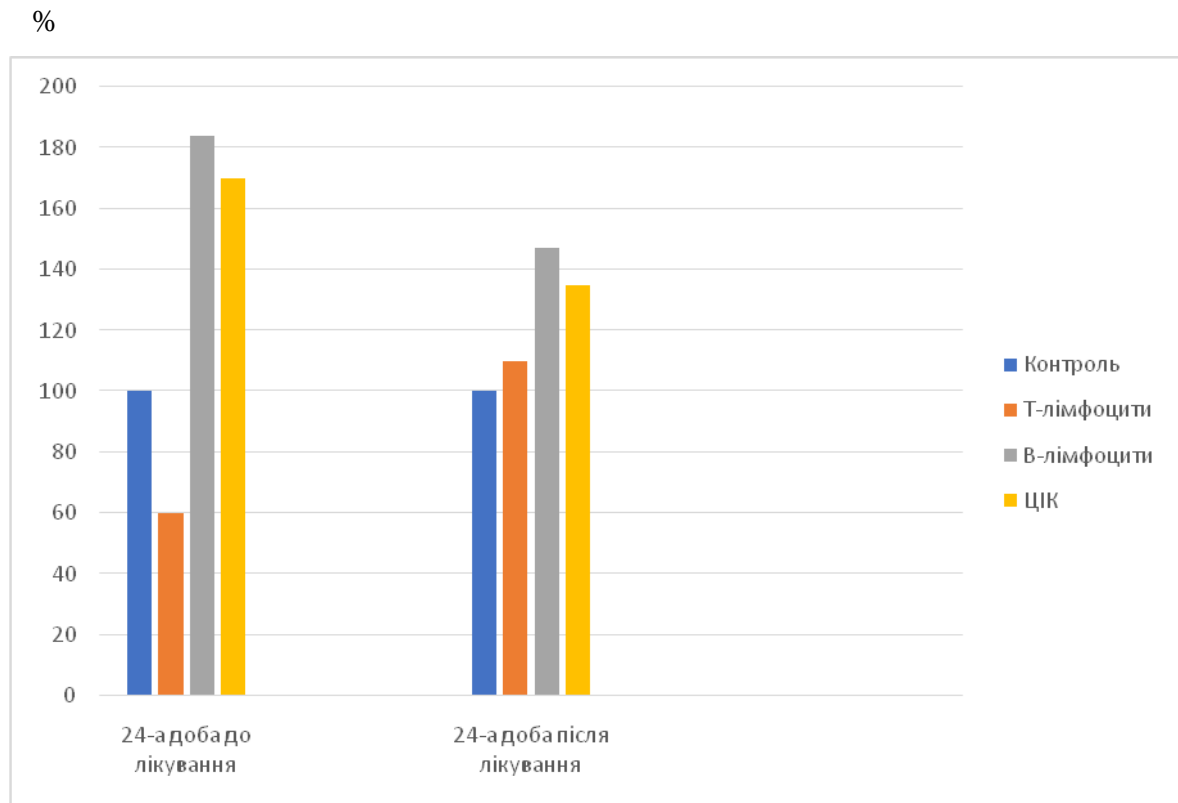


Рисунок 6.4. - Вплив L-аргініну на порушені показники імунної системи при ЕАА і ЕП на 24-у у добу експерименту (% порівнянні до та після застосування L-аргініном на 24-у добу ЕАА і ЕП).

На основі одержаних нами результатів імунологічного дослідження було зроблено такі проміжні висновки:

1. Експериментальний алергічний альвеоліт спричиняє достовірні зміни показників імунної системи в крові на усіх етапах його маніфестації (4-а, 7-а, 14-а, 24-а доби), які проявлялися зниженням рівня Т-лімфоцитів на тлі підвищення вмісту В-лімфоцитів і ЦІК з особливою перевагою на 14-у і 24-у доби експерименту проти контролю. Виняток становила група тварин з ЕАА (4-

а доба) в яких достовірних змін щодо концентрації Т і В-лімфоцитів не було виявлено відносно інтактної групи тварин.

2. Експериментальний пародонтит на усіх етапах своєї маніфестації (4-а, 7-а, 14-а, 24-а доби) викликає порушення імунного гомеостазу: зниження вмісту Т-лімфоцитів на тлі підвищення рівня В-лімфоцитів і ЦК в крові проти контролю з перевагою на 7-у добу експерименту, що відповідало стадії розпалу хвороби.

3. Асоційований ЕАА і ЕП зумовлює більші зміни показників імунної системи ніж окремо в порівнянні з першою групою тварин ,а саме суттєве зростання концентрації В-лімфоцитів і ЦК на тлі зниження рівня Т-лімфоцитів та вказує на їх важливу роль, а саме імунокомплексного механізму пошкодження клітин в патогенезі розвитку цих експериментальних моделей хвороб.

4. Використання L-аргініну тваринам з поєднаним ЕАА і ЕП спричиняє імунокоригувальний вплив на порушені маркери, як клітинної так і гуморальної ланок імунітету проти групи морських свинок без впливу даного лікарського середника на 24-у добу експерименту.

Результати імунологічного дослідження шостого розділу дисертації висвітлені в одній науковій праці [1]

РОЗДІЛ 7

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

На сьогодні алергічні захворювання у світі є досить поширеними і складають понад 20% населення земної кулі та мають прогресуючу тенденцію до перманентного росту, серед яких екзогенний алергічний альвеоліт входить до патології бронхолегеневого апарату і розглядається, як імунно-алергічне захворювання, що характеризується дифузним ураженням альвеол і термінальних бронхіол [38, 39, 40, 41, 43, 51, 94, 113].

У даний час відомо біля тридцяти професій, серед яких виникає екзогенний алергічний альвеоліт. Це захворювання небезпечне тим, що зумовлює цілий ряд ускладнень таких, як пневмосклероз, емфізему легень, дихальну недостатність, легеневе серце, тощо, а також викликає тривалі періоди непрацездатності і навіть смерть. Діагностика і лікування також є не зовсім простими, тому, що у 40-60% випадків у практичній діяльності пульмонолога, алерголога зустрічається гіпер- або гіподіагностика цього захворювання. Патогенез розвитку ЕАА повністю є не вивченим. Лікування зводиться до уникнення пацієнта з алергеном, застосування протиалергічних засобів та кортикостероїдів [75, 81, 85, 86, 94, 117].

Більш розповсюдженою патологією серед стоматологів є хвороби пародонта, особливо запального характеру і за результатами досліджень різних авторів вони складають від 75-90% [12, 13, 31, 112, 126]. Пародонтит супроводжується випадінням зубів, наявністю запальних вогнищ у ротовій порожнині, що може служити джерелом антигенів для виникнення алергічних захворювань або посилювати прогресування основного захворювання [2, 11, 12, 13, 14, 15, 22, 23, 26, 27, 28, 29, 31, 80, 82, 98].

У доступній нам медичній літературі ми не знайшли наукових публікацій, які б стосувалися коморбідності двох захворювань - ЕАА і пародонтиту. Проте уже відомо, що поєднана патологія посилює основне захворювання, ускладнює їх перебіг і діагностику та лікування, знижує

резистентність організму, тому їх вивчення, як в експерименті так і в клініці є важливим.

У даний час частково відомі механізми розвитку алергічного альвеоліту та пародонтиту, якщо ці захворювання розглядати з позицій окремих патологій. Не з'ясований патогенез у разі поєднання ЕАА з пародонтитом. Тому ця тема викликає певний науковий інтерес щодо патофізіологічних особливостей змін показників системи оксиду азоту, процесів вільнорадикального окислення та системи антиоксидантної протекції, рівня прозапальних та протизапальних цитокінів, стану клітинної та гуморальної ланок імунної відповіді та їх ролі і участі у патогенезі даного інтерстиційного захворювання легень та запального процесу в тканинах пародонту, як до так і після використання для лікування препарату L-аргініну.

Тому метою нашого дослідження було з'ясувати роль порушень показників системи оксиду азоту, цитокінового статусу, імунної системи, процесів ліпопероксидації і антиоксидантного захисту в механізмах розвитку експериментального алергічного альвеоліту і пародонтиту та визначити коригуючий вплив на змінені показники препарату L-аргініну.

Відповідно до мети було поставлено і вирішено п'ять завдань дослідження:

1. Дослідити патофізіологічні особливості змін показників системи оксиду азоту в легенях у патогенезі експериментального алергічного альвеоліту і пародонтиту.

2. Оцінити роль маркерів цитокінового статусу в механізмах формування експериментального алергічного альвеоліту і пародонтиту.

3. З'ясувати особливості порушень прооксидантної і антиоксидантної системи в динаміці перебігу цієї коморбідної патології.

4. Вивчити зміни показників клітинної та гуморальної ланок імунітету та їх участь в механізмах розвитку експериментального алергічного альвеоліту асоційованого з пародонтитом.

5. Патогенетично обґрунтувати доцільність використання L-аргініну за умов формування експериментального алергічного альвеоліту поєданого з пародонтитом.

Для цього були проведені комплексні біохімічні, імунологічні і імуноферментні дослідження на морських свинках. Відповідно до мети і завдань дослідження тварин розподіляли на п'ять груп: - перша група – (контроль) інтактні тварини (9); друга група – морські свинки (36) з ЕАА, поділені на чотири підгрупи (по 9 тварин у кожній) в залежності від термінів виведення з експерименту: на 4-у, 7-у, 14-у і 24-у доби; третя група – тварини з ЕП (36), поділені на чотири підгрупи (по 9 тварин у кожній) : на 4-у, 7-у, 14-у і 24-у доби експерименту; четверта група – морські свинки з ЕАА та ЕП (36), поділені на чотири підгрупи (по 9 тварин у кожній) на 4-у, 7-у, 14-у і 24-у доби експерименту; п'ята група - морські свинки з ЕАА та ЕП (9) на 24-у добу експерименту, яким проводили лікування. Застосовували препарат L-аргінін (виробництва ПрАТ Фармацевтична фірма «Дарниця»), який вводили внутрішньом'язово у дозі 150 мг/кг щоденно впродовж 11 днів (з 14-ї по 24-у доби).

Моделювали експериментальний алергічний альвеоліт за методом О. О. Орехова, Ю. А. Кирилова, шляхом проведення попередньої імунізації за допомогою внутрішньом'язової ін'єкції 0,2 мл повного ад'юванта Фрейнда з подальшим внутрішньовенним введенням 0,2 мл 1% БЦЖ (бацили Кальмета-Жерена) на 4, 7, 14 та 24 доби дослідження у підгрупах тварин, що не були виведені з експерименту.

Експериментальний пародонтит відтворювали за методом Воскресенського О.Н. [18] з використанням моделі зниженої жувальної функції, згідно якої тварини знаходились на пастоподібному раціоні харчування, з нормою 65 г на добу протягом 24 діб. Модель обрана для відтворення пародонтиту – є класичною моделлю, яка рекомендована для доклінічного дослідження пародонтипротекторних властивостей лікарських засобів.

Першим етапом нашого дослідження було з'ясувати патофізіологічні особливості змін показників системи оксиду азоту в динаміці розвитку ЕАА і ЕП, як окремо так в їх поєднанні до та після лікування L-аргініном.

Нині уже доведено, що будь-який патологічний процес прямо чи опосередковано пов'язаний із поліфункціональними властивостями оксиду азоту (NO). Зазначена молекула є ідеальним біомаркером стосовно можливостей об'єктивної оцінки не тільки за фізіологічних, але й при патологічних процесах живого організму, а також визначення фармакологічного ефекту в умовах терапії патологій різного генезу [24, 31, 47, 68].

Встановлено, що оксид азоту функціонує як фізіологічний чи патофізіологічний посередник, що виробляється групою ізоферментів NO-синтаз – сумарних NOS та iNOS, кожна з яких має свої особливості як за механізмом дії, так і за біологічним значенням. Ізоформи NOS є діоксигеназами, які використовують кисень і NADPH для трансформації [31, 68, 76].

Літературні джерела свідчать про те, що ступінь активності патологічного процесу залежить від концентрації стабільних метаболітів оксиду азоту. Саме тому за рівнем у крові цих показників можна оцінити динаміку розвитку захворювання і коригуючий вплив лікарських середників [31, 47, 68, 76, 84, 111].

У цьому контексті вивчення особливостей порушень маркерів системи оксиду азоту в легенях при ЕАА і ЕП до та після застосування L-аргініну має важливе значення для поглибленого розуміння окремих механізмів розвитку даних моделей хвороб та визначення ефективності призначеної патогенетичної терапії.

Відомо, що за умов розвитку хронічного пародонту виникають розлади в системі мікроциркуляції. Безпосередньою причиною розладів мікроциркуляції є ендотеліальна дисфункція, що великою мірою залежить від біодоступності оксиду азоту, який виробляється ендотеліальною формою NOS [24, 31, 47]. При

запальному ураженні здебільшого має місце гіперсекреція індукцибельної NOS. Що призводить до продукції надмірної продукції NO, який може відігравати роль важливого ефектора у механізмах розвитку запалення тканин пародонта. Крім цього було показано, що при пародонтиті розвивається так званий нітрооксидативний стрес при якому, оксид азоту взаємодіє з супероксидним аніоном, результатом чого є утворення пероксинітриту [31, 68, 111]. З останнім пов'язують альтеруючу дію NO на біологічні макромолекули. Особливо на білки та ліпіди, що у свою чергу, викликає дисбаланс процесів інактивації активних форм кисню, який призводить до порушення структури і функції клітинних мембран та закінчується загибеллю клітини, розвитком запалення [24, 31, 68, 111].

Результати біохімічних досліджень показали, що в динаміці (4-а, 7-а, 14-а, 24-а доби) формування експериментального пародонтиту відбувалося перманентне зростання вмісту стабільних метаболітів NO в легенях відносно контролю, що вказувало на те, що ці показники були найбільше виражені на 7-у добу спостереження, що відповідала стадії розпалу хвороби, хоча були високими в усі інші періоди розвитку цієї експериментальної моделі хвороби.

Вивчення сумарної активності NOS в легенях дало змогу показати її постійне підвищення на 4-у, 7-, 14-у і 24-у доби ЕП при порівнянні з першою групою тварин, що може вказувати на активізацію запального процесу в пародонті з перевагою на 7-у добу.

Визначення рівня L-аргініну в легенях при ЕП показало його зниження на усіх етапах експерименту відносно контрольних величин.

Таким чином одержані нами результати біохімічних досліджень дозволяють зробити висновок, що рівень L-аргініну зазнавав найнижчих показників на 7-у добу експерименту, що відповідало стадії розпалу хвороби і очевидно це обґрунтовується значною витратою даного білка на інтенсивний синтез оксиду азоту.

Отже, здійснені нами визначення нітрит і нітрат йонів, сумарної активності NOS і L-аргініну при ЕП показало стабільне зростання стабільних

метаболітів NO і активності NOS на тлі помірного зниження рівня L-аргініну в легенях з особливою перевагою на 7-у добу цієї експериментальної моделі хвороби відносно першої групи тварин і залежало від ступеня активності запального процесу в тканинах пародонта і фази його формування. Це має важливе значення щодо участі метаболічних порушень показників системи NO в патогенезі розвитку цієї експериментальної моделі хвороби.

Нами виявлено, що в процесі розвитку іншої патології - АА (4-а, 7-а, 14-а і 24-а доби) спостерігалось поступове підвищення рівня стабільних метаболітів NO в легенях проти інтактної групи тварин, що свідчило про стимуляцію імунно-алергічного процесу, що переважає у пізній етап цієї імуннокомплексної патології.

Дослідження сумарної активності NOS показало її послідовне зростання в легенях на усіх етапах формування ЕАА (4-а, 7-а, 14-а і 24-а доби) при порівнянні з першою групою тварин з домінуванням на 24-у добу експерименту.

Визначення L-аргініну в легенях у динаміці (7-а, 14-а, 24-а доби) формування ЕАА показало зниження його рівня на усіх етапах його проти контролю, за винятком другої групи тварин (4-а доба) в якій цей показник знаходився на рівні інтактної групи тварин.

Таким чином, підводячи підсумок отриманих нами результатів досліджень можна констатувати, що ЕАА на усіх стадіях свого розвитку суттєво вплинув на параметри системи оксиду азоту: зокрема було виявлено значне поступове підвищення вмісту стабільних метаболітів NO і сумарної активності NO синтази на тлі помірного зниження рівня L-аргініну з домінуванням їх змін у пізній період (14-а, 24-а доби) цієї імуннокомплексної патології відносно першої групи тварин.

Особливий інтерес викликали дослідження, що присвячені ЕП поєднаний з ЕАА (4-а, 7-а, 14-а, 24-а доби) зумовлював суттєве послідовне підвищення рівня стабільних метаболітів NO в легенях проти контрольної

групи тварин, що вказує на стимуляції імунно-запального процесу та залежність його вираження від тривалості цих коморбідних патологій.

Отримані нами результати досліджень свідчать про те, що власне за визначенням даного маркера оксиду азоту можна оцінювати ступінь активності цих моделей хвороб.

Дослідження сумарної активності NOS було показано, що в процесі (4-а, 7-а, 14-а, 24-а доби) розвитку ЕП разом з ЕАА відбувається поетапне її підвищення в легенях з перевагою на 24-у добу експерименту при порівнянні з інтактною групою морських свинок, що може вказувати на активізацію імунно-запального процесу в легенях та прогресування цієї імуннокомплексної патології і запального процесу в тканинах пародонта.

Вивчення концентрації L-аргініну в легенях в умовах коморбідності ЕП і ЕАА (на 4-у, 7-у, 14-у і 24-у доби експерименту) встановлено поетапне його зниження проти першої групи тварин з домінуванням їх у найпізніший термін нашого спостереження.

Проведений нами аналіз одержаних результатів дослідження щодо рівня L-аргініну можна пояснити суттєвими витратами його на надмірний інтенсивний синтез оксиду азоту, який поступово зростав в залежності від тривалості експерименту, особливо в умовах асоційованого ЕП з ЕАА, що свідчило про помітні порушення метаболізму показників оксиду азоту, а також про виражену активізацію імунно-запальних процесів у легенях і прогресування та їх важливу роль для визначення шляхів і стратегії патогенетичної терапії даної коморбідної патології.

Отже, проведений нами комплекс біохімічних досліджень стосовно маркерів оксиду азоту при поєднаному моделюванні ЕП і ЕАА показав суттєві зміни щодо системи NO, які проявлялися вираженим підвищенням рівня стабільних метаболітів NO і активності NOS на тлі помітного зниження концентрації L-аргініну в легенях. Зазначені порушення метаболізму NO домінували особливо на 14-у і 24-у доби експерименту проти контрольних

параметрів та вказували на їх активну участь в механізмах формування цих експериментальних моделей хвороб.

На підставі отриманих нами результатів дослідження був сформульований перший загальний висновок.

Застосування L-аргініну з 14-ої по 24-у доби експерименту в/м у дозі 150 мг/кг маси щоденно призводило до зниження рівня стабільних метаболітів NO та сумарної активності NOS в легенях і підвищення вмісту L-аргініну при ЕП і ЕАА на 24-у добу експерименту відносно групи тварин, які не піддавалися дії цього лікарського середника, що вказувало на їх коригувальний вплив на порушені показники системи оксиду азоту.

Таким чином, аналізуючи одержані нами результати досліджень дозволяють констатувати, що асоційований ЕП з ЕАА спричиняє більш суттєві порушення показників системи оксиду азоту ніж окремо до лікування проти інтактної групи тварин, і може свідчити про його позитивну дію на змінені метаболічні процеси, а саме оксиду азоту в легенях, які розвинулися умовах коморбідної патології (ЕП та ЕАА).

У медичній літературі ми не знайшли механізму дії L-аргініну на порушені маркери NO за умов поєднаної патології (ЕП і ЕАА). На нашу думку, введення препарату поповнює дефіцит аргініну в організмі оскільки було встановлено його зниження, а також знижує вміст стабільних метаболітів NO і сумарної активності NOS, дає підставу говорити про його позитивну дію.

Отже, одержані нами позитивні результати впливу L-аргініну дають основу стверджувати, що зазначений лікарський середник зумовлював коригуючу дію на змінені маркери NO і надалі є доцільним для його вивчення у клініці при ЕАА і ЕП стоматологами, пульмонологами, алергологами.

Другим етапом нашого дослідження було вивчити роль змінених показників прооксидантної і антиоксидантної систем в легенях в механізмах розвитку експериментального пародонтиту та алергічного альвеоліту. Зокрема з'ясувати участь одного з молекулярних (ліпідних) механізмів пошкодження клітин за допомогою визначення вмісту ДК, МДА та активності СОД, КТ, ЦП в

легенях при даних моделях хвороби до та після використання препарату L-аргініну.

Цілий ряд науковців стверджують, що реакціям вільнорадикального впливу підлягають усі органічні структури, але провідне значення має окиснення фосфоліпідів і неестерифікованих жирних кислот, у перекисах яких наявні два спряжені подвійні зв'язки [25, 33, 41, 46, 51, 53, 102, 114]. У зв'язку з тим, дані первинні продукти окиснення отримали назву ДК. Серед об'єктів повторних атак окиснювачів на ліпідні комплекси клітинних мембран ключове місце займає малоновий діальдегід, як кінцевий продукт ліпопероксидації [69, 70, 73, 75, 92, 93, 118]. Надмірна продукція метаболітів ліпопероксидації, нагромаджуючись в крові та негативно впливаючи на функцію органів, тим самим ускладнює і маніфестацію різних захворювань [3, 4, 5, 6, 7, 14, 19, 40, 41, 105].

Для цього були здійснені комплексні біохімічні дослідження та оцінені результати порушення маркерів прооксидантної (ДК і МДА) та ферментативної (СОД, КТ) і не ферментативної (ЦП) ланок антиоксидантної системи у легенях тварин в динаміці розвитку експериментального алергічного альвеоліту та пародонтиту до та після використання препарату L-аргініну.

В умовах формування (4-а, 7-а, 14-а, 24-а доби) ЕАА відбувалося поступове зростання вмісту ДК в легенях відносно контрольної групи тварин, за винятком другої групи морських свинок (4-а доба). В яких ці показники знаходилися на рівні контролю.

Аналогічних векторних змін зазнав рівень МДА в легенях при ЕАА, поетапно був підвищеним на 7-у, 14-у і 24-у доби в порівнянні з інтактною групою тварин, окрім групи морських свинок на 4-у добу експерименту, які не зазнавали достовірних змін.

На початкових (4-а доба) періодах розвитку ЕАА активність СОД в легенях була на рівні контролю. Далі на 7-у добу експерименту відбувалося компенсаторне підвищення цього ензиму відносно інтактної групи тварин.

Пізній період (14-а, 24-а доби) ЕАА супроводжувався помітним зниженням активності СОД порівняно з першою групою тварин.

Визначення іншого ензиму, а саме активність КТ в легенях у ранній період (4-а, 7-а доби) ЕАА спостерігалось незначне зростання цього ферменту, а пізніше на 14-у і 24-у доби цієї імунотоксичної патології відбувалося помітне її зниження в легенях в порівнянні з інтактною групою тварин, що свідчило спочатку про компенсаторну реакцію даного ензиму на надмірне нагромадження продуктів ПОЛ, а потім її виснаження.

Власне, у період, що включає 14-у і 24-у доби роботи ЕАА відбувається формування оксидантного стресу, який посилює активність алергічного альвеоліту в легенях.

Крім ферментативної ланки АОС, досліджували вміст ЦП в легенях при ЕАА, що відноситься до неферментативної компоненти антиоксидантного захисту. Було встановлено, що на 4-у і 7-у доби ЕАА рівень ЦП зростав, а згодом на 14-у і 24-у доби експерименту цей показник був стрімко зниженим, а саме знижувався проти першої групи тварин.

Таким чином, як показує аналіз наших біохімічних досліджень вмісту, а саме, як первинних так і кінцевих продуктів ПОЛ (ДК, МДА) так і активності СОД, КТ і рівня ЦП в легенях спостерігалось поступове зростання метаболітів ліпопероксидації та спочатку компенсаторне зростання зазначених вище ензимів (СОД, КТ, ЦП) (4-а, 7-а доби), а пізніше їх достовірне зниження, що свідчило про розвиток оксидативного стресу. Останній спричиняє прогресування алергічного процесу в легенях.

Нами було встановлено послідовне підвищення рівня ДК в легенях при іншій патології - ЕП (4-а, 7-а, 14-а, 24-а доби) проти контролю, що вказувало на надмірне утворення продуктів ліпопероксидації.

Подібних зрушень зазнав інший показник за яким характеризували ступінь ПОЛ, зокрема МДА вміст якого зростав у легенях і досягнув найвищих цифр у стадію розпалу запального процесу в пародонті. А саме МДА зростав

відносно першої групи при ЕП відповідно на 4-у, 7-у, 14-у і 24-у доби експерименту.

Для того, щоб виявити наявність оксидантного стресу крім визначень первинних і кінцевих продуктів ПОЛ необхідно досліджувати стан активності антиоксидантної системи в динаміці формування ЕП.

Надмірна продукція метаболітів ліпопероксидації суттєво вплинула на маркери активності, як ферментативної так і неферментативної ланок антиоксидантного захисту при ЕП. Спочатку на 4-у добу формування пародонтиту спостерігалось незначне компенсаторне підвищення активності СОД в легенях відносно інтактної групи тварин. Пізніше, а саме на 7-у, 14-у і 24-у доби запального процесу в пародонті відбувалося помітне зниження даного ферменту в порівнянні з першою групою тварин, що свідчило про неспроможність АОС активно нейтралізувати велику кількість продуктів ПОЛ.

Дослідження іншого фермента, а зокрема активності КТ показало, що ранній період (4-а доба) ЕП супроводжувався помітним підвищенням даного ензиму в легенях, а згодом в наступні 7-у, 14-у і 24-у доби експерименту було встановлено її помітне зниження активності проти контролю, що дозволяє констатувати про депресивний стан даного ферменту та нездатності АОС виводити значну кількість продуктів ліпопероксидації.

Не менш важливим для комплексної оцінки визначення здатності антиоксидантного захисту має дослідження третього компоненту АОС, а саме вмісту ЦП в легенях при ЕП.

Було показано незначне підвищення рівня ЦП на початкових періодах формування (4-а доба) ЕП, а далі на 7-у, 14-у і 24-у доби цієї експериментальної моделі хвороби відбувалося суттєве зниження вмісту ЦП. Зокрема відносно інтактної групи тварин.

Таким чином, проведене нами комплексне біохімічне дослідження рівня ДК, МДА та активності СОД, КТ і вмісту ЦП в легенях показало стабільно прогресуюче зростання процесів ліпопероксидації на тлі зростання активності ,як ферментативної так і неферментативної ланок АОС (4-а доба) з наступним

пригніченням їх активності особливо на 14-у і 24-у доби ЕП, що дало підстави констатувати про формування оксидантного стресу та посилення запального процесу в тканинах пародонту.

Значний інтерес викликають біохімічні дослідження, які присвячені вивченню особливостей порушень показників прооксидантної (ДК, МДА) і антиоксидантної системи (СОД, КТ, ЦП) в легенях в динаміці розвитку ЕАА асоційованого з ЕП до лікування.

Нами встановлено, що в процесі формування ЕП і ЕАА (4-а, 7-а, 14-а і 24-а доби) відбувалося поетапне зростання вмісту ДК в порівнянні їх контролем, що свідчило про надмірне утворення продуктів ПОЛ і їх шкідливий вплив на організм.

Аналогічних порушень, як видно, що вміст МДА в легенях в динаміці (4-а, 7-а, 14-а і 24-а доби) формування поєднаних алергічних і запальних процесів спостерігалось послідовне нагромадження кінцевого продукту ПОЛ, а саме його зростання в порівнянні з першою групою морських свинок.

Отже, стабільно прогресуюче накопичення, як первинних так і вторинних метаболітів ліпопероксидації суттєво впливає на стан активності, як ферментативної так і неферментативної ланок антиоксидантного захисту.

З перших діб нашого дослідження і надалі (4-а, 7-а, 14-а і 24-а доби) поєданого ЕАА і ЕП відбувалося виснаження ферментативної АОС, зокрема активність СОД відповідно була зниженою відносно контролю.

Активність іншого ферменту, а саме КТ в легенях в процесі формування коморбідної патології (ЕАА і ЕП) на 4-у, 7-у, 14-у і 24-у доби спостерігалось помітне зниження активності даного ензиму проти інтактної групи тварин, що свідчило про неспроможність АОС нейтралізувати продукти ПОЛ.

Визначення вмісту ЦП в легенях в умовах розвитку ЕАА асоційованого з ЕП (4-а, 7-а, 14-а, 24-а доби) показало суттєве зниження рівня даного показника в порівнянні з першою групою морських свинок, що вказувало про нездатність АОС повністю нейтралізувати надмірно утворені продукти ПОЛ.

Таким чином, проводячи аналіз одержаних нами результатів дослідження можна стверджувати, що поєднаний АА і ЕП зумовлює суттєві зміни процесів ліпопероксидації, які прогресивно зростали на тлі виснаження, як ферментативної так і неферментативної ланок АОЗ з розвитком оксидантного стресу, що вказувало на прогресування починаючи з перших днів наших досліджень досягаючи найвищої активності в пізній період цих моделей хвороб.

Проводячи аналіз комплексних біохімічних досліджень щодо змін маркерів в системі оксиду азоту, що описані в третьому розділі дисертації та результатів порушень показників про-і антиоксидантної системи при поєднанні ЕАА і ЕП дає підстави констатувати про розвиток нітрооксидантного стресу, який посилює запальний і алергічний процеси в організмі тварин та змушує визначити і проводити патогенетичну терапію при цих експериментальних моделях хвороб.

Застосування L-аргініну з 14-ої по 24-у доби експерименту за умов розвитку ЕАА асоційованого з ЕП спричиняє зниження вмісту ДК та підвищує активність СОД, КТ і ЦП в легенях відносно групи тварин на 24-у добу експерименту, яким не вводився даний лікарський середник, що свідчить про антиоксидантний вплив на порушені показники ліпопероксидації і антиоксидантного захисту.

Таким чином, підводячи підсумок одержаних нами результатів дослідження, можна стверджувати, що поєднаний ЕАА з ЕП зумовлюють більш суттєві метаболічні порушення щодо змін прооксидантної і антиоксидантної системи з розвитком оксидантного стресу ніж окремо (ЕАА чи ЕП) проти контролю до лікування, а використання L-аргініну призводить до антиоксидантної дії даних порушень. На підставі отриманих нами результатів дослідження був сформульований другий загальний висновок.

Наступним етапом нашого дослідження було з'ясувати стан цитокінового статусу за умов формування експериментального алергічного

альвеоліту і експериментального пародонтиту та корекція їх порушень L-аргініном та визначити їх участь в патогенезі даних моделей хвороб.

У цьому зв'язку літературні джерела вказують на те, що цитокінам, як універсальним біорегуляторам міжклітинних взаємодій при імунній відповіді, належить ключова роль у реалізації імунозапальної реакції в організмі [18, 32, 35, 36]. Власне тому підвищений синтез прозапальних чи дисбаланс опозиційних пулів цитокінів відіграє важливу роль у патогенезі різних захворювань у зв'язку із надмірною міграцією до осередку запалення ефektorних клітин [11, 32, 35, 47, 85]. Це посилює патоімунний процес і спричиняє цитокіноопосередковане ураження тканинних структур органів. Саме тому цитокіновий стан сироватки крові має важливе значення для загальної характеристики імунно-запальних процесів різного генезу [32, 85, 86, 87, 88].

Для цього ми проводили дослідження прозапальних (ФНП- α і IL-6) і протизапальних цитокінів (IL-10) в крові у динаміці розвитку ЕАА і ЕП на 4-у, 7-у, 14-у і 24-у доби до та після лікування L-аргініном.

Встановлено, що в умовах розвитку ЕАА (4-а, 7-а, 14-а і 24-а доби) відбувалося послідовне підвищення вмісту ФНП- α в крові проти групи контролю, що свідчило про посилення активізації прозапального цитокіну, який збільшує імунно-запальний процес в легенях.

Цей показник зазнав прогресуючий зростаючих величин на усіх етапах формування ЕАА, з особливою перевагою у найпізніший термін нашого спостереження (14-а, 24-а доби).

Визначення іншого прозапального пулу цитокіну у крові – IL-6 було показано, що він поступово зростав, як в ранній (4-а, 7-а доби) так і в пізній (14-а, 24-а доби) періоди розвитку ЕАА в порівнянні з першою групою тварин, що свідчило про активізацію алергічного процесу.

Дослідження в крові IL-10 при ЕАА (на 4-у добу) показало, що цей цитокін знаходився на рівні контролю. Пізніше на 7-у, 14-у і 24-у доби

формування алергічного процесу спостерігалось суттєве, достовірне зниження вмісту ІЛ-10 в крові відносно першої групи тварин.

Таким чином, проведене імуноферментне дослідження ФНП- α , ІЛ-6 і ІЛ-10 в крові дало можливість виявити особливості змін цитокінового статусу, що проявлялося зростанням прозапальних цитокінів (ФНП- α , ІЛ-6) та зниження протизапального цитокіну (ІЛ-10), що вказує на дисбаланс цитокінового профілю з перевагою цих змін на 14-у, і 24-у доби ЕАА та їх важливе значення для механізмів розвитку цієї імунокомплексної патології. Зокрема участь цитокіноопосередкованого ушкодження клітин.

У стадії розвитку (4-а доба) і розпалу іншої патології - ЕП (7-а доба) відбувалося поступове підвищення вмісту прозапальних цитокінів, а саме ФНП- α і ІЛ-6 проти контрольної групи тварин. У стадії реконвалесценції (14-а доба) і репарації (24-а доба) хвороби спостерігалось подальше зростання рівня ФНП- α в крові та ІЛ-6 відносно першої групи тварин, що вказувало на прогресивну активізацію запального процесу в тканинах пародонта.

Визначення одного з важливих цитокінів, що відноситься до протизапального пулу - ІЛ-10 в крові в динаміці розвитку ЕП (4-а, 7-а, 14-а і 24-а доби) показало його протилежні зміни, а саме суттєве послідовне зниження в порівнянні з інтактною групою тварин.

Таким чином, проведені імуноферментні дослідження показали розвиток дисбалансу між прозапальними (ФНП- α , ІЛ-6 – зростали) та протизапальними цитокінами (ІЛ-10) в крові – знижувався на усіх етапах формування ЕП з особливою перевагою у пізній період 14-а, 24-а доби цієї експериментальної моделі хвороби, що вказувало на їх важливу роль у механізмах розвитку ЕП та посилення патоімунного процесу в організмі.

Особливий інтерес представляють дослідження ЕАА, що асоційований з ЕП на 4-у, 7-у, 14-у і 24-у доби експерименту, які супроводжуються помітним послідовним зростанням вмісту ФНП- α в крові проти контролю.

Дослідження рівня ІЛ-6 у крові у ранній період розвитку ЕАА і ЕП (4-а, 7-а доби) виявило поетапне його зростання проти контролю. Далі на 14-у і 24-у

добу формування ЕП і ЕАА було встановлено подальше підвищення вмісту цього цитокіну відносно інтактної групи тварин, яке досягнуло свого апогею на 24-у добу цих моделей хвороб.

Вивчення рівня ІЛ-10 в крові в динаміці розвитку поєднаних патологічних процесів – ЕП і ЕАА (4-а, 7-а, 14-а і 24-а доби) показало його помітне послідовне зниження в порівнянні з першою групою морських свинок з перевагою на 24-у добу експерименту.

Таким чином, як показують одержані результати наших досліджень, що ЕАА асоційований з ЕП зумовлюють більш виражений дисбаланс цитокінового статусу, ніж окремо (ЕП або ЕАА), проти контролю. Це має важливе значення для ширшого розуміння цитокінових механізмів їх розвитку і служить основою для обґрунтування і розробки патогенетичної терапії, а саме застосування L-аргініну.

Використання препарату L-аргініну тваринам з ЕАА і ЕП призводило до зниження вмісту ФНП- α і ІЛ-6 в крові та підвищення рівня ІЛ-10 в крові в порівнянні з групою морських свинок з цими моделями хвороби (на 24-у добу) без впливу цього лікарського середника, що вказувало на позитивний цитокінокоригуючий вплив його на порушені маркери цитокінового статусу.

Таким чином, поєднаний ЕАА з ЕП викликає суттєві порушення дисбалансу цитокінового статусу ніж окремо, що проявлявся зростанням вмісту прозапальних цитокінів на тлі зниження протизапального цитокіну в крові до лікування відносно контролю. На основі отриманих нами результатів дослідження був сформульований третій загальний висновок.

Четвертим етапом нашого дослідження було вивчити особливості змін імунної системи за умов розвитку експериментального алергічного альвеоліту і пародонтиту та корекція їх L-аргініном за допомогою визначення вмісту Т і В-лімфоцитів, ЦІК в крові та їх ролі у патогенезі даних експериментальних моделей хвороб.

З літературних джерел відомо, що ключовими елементами імунної системи є дві великі популяції – Т і В-лімфоцитів і їх розрізняють за

молекулярними основами розпізнавання антигенів та за виконанням ефекторних функцій в імунитеті [32, 37, 56, 59, 89, 90, 96, 121, 123]. Тому від стану імунної системи, і її адаптаційних спроможностей залежить адекватність реагування організму на генетично чужорідні агенти та вірогідність розвитку інфекційних, алергічних і аутоімунних захворювань [71, 72, 79, 99, 101, 103, 104, 119]. Аналізуючи вищенаведене можна стверджувати, що імунна система відіграє важливу роль в організмі і може зазнавати помітних змін при різних захворюваннях, як алергічного так і запального характеру.

Результати імунологічних досліджень показали, що на 4-у добу розвитку ЕАА вміст Т-лімфоцитів у крові не зазнавав достовірних змін, він знаходився на рівні контролю.

В інші терміни нашого спостереження (7-а, 14-а, 24-а доби) ЕАА відбувалося поступове зниження концентрації Т-лімфоцитів у крові в порівнянні з першою групою тварин, що свідчило про пригнічення клітинної ланки імунитету, яке було найбільше виражено на 24-у добу експерименту.

Дослідження вмісту В-лімфоцитів у крові на 4-у добу формування ЕАА показало, що цей показник був на рівні інтактної групи тварин.

Подальше вивчення особливостей змін вмісту В-лімфоцитів у крові, а саме на 7-у, 14-у і 24-у доби ЕАА дало змогу встановити його зростання відносно контрольної групи тварин.

Визначення загальних ЦІК у крові в динаміці формування ЕАА (4-а, 7-а, 14-а, 24-а доби) дозволило з'ясувати перманентне підвищення даного маркера проти першої групи тварин, що свідчило про участь одного з імунокомплексних механізмів (ІІІ тип алергічних реакцій) розвитку цієї імунокомплексної патології.

Отже, проведені та проаналізовані нами імунологічні зміни дають підставу вважати, що ЕАА супроводжується підвищенням вмісту В-лімфоцитів і ЦІК на тлі зниження рівня Т-лімфоцитів крові на усіх етапах нашого спостереження відносно контролю, за винятком групи тварин з ЕАА щодо змін Т і В-лімфоцитів на 4-у добу, де ці показники не зазнавали змін.

Дослідження вмісту Т і В-лімфоцитів та ЦІК дали можливість зробити оцінку змін даних маркерів у динаміці формування ЕП. Було встановлено, що як у ранній (4-а, 7-а доба) так і в пізній (14-а, 24-а доби) періоди ЕП, що вміст Т-лімфоцитів в крові знижувався проти контролю.

Одержані нами результати досліджень свідчать, що стабільне зниження функціональних можливостей Т-клітин імунітету, яке домінувало найбільше на 7-у добу ЕП, що відповідало стадії розпалу хвороби відносно першої групи тварин.

Визначення концентрації В-лімфоцитів у крові на 4-, 7-у, 14-у і 24-у доби ЕП показало перманентне зростання проти контрольної групи тварин з перевагою на стадії розпалу хвороби.

Дослідження загального вмісту ЦІК у крові в динаміці (4-а, 7-а, 14-а, 24-а доби) формування ЕП було з'ясовано, що запальний процес в тканинах пародонту зумовлює постійне підвищення рівня ЦІК відносно інтактної групи тварин.

Таким чином, підсумовуючи одержані нами результати імунологічних досліджень можна констатувати, що впродовж усіх етапів нашого спостереження відносно ЕП відбувалося підвищення рівня В-лімфоцитів і ЦІК та зниження концентрації Т-лімфоцитів у крові, що свідчило про пригнічення клітинного в умовах стимуляції гуморального імунітету та їх активну участь в патогенезі розвитку ЕП. Зазначені порушення маркерів імунного гомеостазу в крові були найпомітніше виражені на 7-у добу та 24-у доби експерименту відносно контролю, що відповідало стадіям розпалу і репарації хвороби.

Особливий інтерес для нас представляв даний розділ дисертаційної роботи, тому що зміни показників імунної системи за умов формування ізольованих хвороб, а саме ЕАА так і при ЕП відомі, проте в поєднанні алергічного альвеоліту з пародонтитом є не з'ясовані. У зв'язку з тим метою даного підрозділу було вивчити особливості порушень маркерів імунного гомеостазу за умов поєднання ЕАА з ЕП на 4-у, 7-, 14-у і 24-у доби експерименту до лікування.

Нами було виявлено, що поєднаний ЕАА та ЕП супроводжуються помітними зрушеннями, як показників клітинного так і гуморального імунітету. Зокрема встановлено з перших діб нашого спостереження і надалі (4-а, 7-а, 14-а і 24-а доби), ЕАА і ЕП відбувалося помітне послідовне зниження рівня Т-лімфоцитів у крові проти контролю, що свідчило про депресію клітинної ланки імунітету, яке особливо переважало у найпізніший термін (14-а, 24-а доби) нашого дослідження.

Продовження вивчення іншого показника імунної системи, а саме вмісту В-лімфоцитів в процесі маніфестації (4-а, 7-а, 14-а, 24-а доби) ЕАА асоційованого з ЕП показало про активізацію В-лімфоцитів у крові, вони зростали в порівнянні з першою групою тварин.

Одержані нами дані вказують на те, що рівень В-лімфоцитів зростав стабільно на усіх періодах розвитку поєднаних експериментальних моделях хвороби з домінуванням на 24-у добу експерименту.

Важливим показником імунної системи за яким ми проводили характеристику щодо їх змін при даній коморбідній патології були циркулюючі імунні комплекси, які як відомо можуть виконувати, як захисний так і пошкоджуючий вплив на організм.

Нами виявлено суттєве, достовірне підвищення вмісту ЦІК у крові у тварин з ЕАА асоційованим з ЕП (4-а, 7-а, 14-а, 24-а доби) проти контрольної групи тварин.

Аналізуючи отримані нами результати імунологічних досліджень можна стверджувати, що поєднаний ЕАА і ЕП зумовлюють поступові порушення показників імунної системи, як клітинної, що знижувалися в крові, так і гуморальної її ланок, були підвищеними та вказують на важливу участь імунної системи в патогенезі розвитку даних коморбідних патологій, а саме ЕАА і ЕП та створюють певні передумови для обґрунтування та забезпечення використання лікарських засобів з метою їх корекції.

Таким чином, проведені нами комплексні імунологічні дослідження дозволяють констатувати, що ЕАА асоційований з ЕП спричиняють більше

виражені порушення імунних процесів ніж окремо (ЕП або ЕАА) у порівнянні з контрольною групою морських свинок та підтверджують важливу роль імунних механізмів у формування цих експериментальних моделей хвороб.

Застосування L-аргініну призводив до підвищення рівня Т-лімфоцитів у крові проти групи тварин з ЕАА та ЕП на 24-у добу без корекції, що свідчило про його імунокоригуючу дію даного лікарського засобу.

Використання препарату L-аргініну тваринам з ЕАА і ЕП (на 24-у добу) зумовлював зниження концентрації В-лімфоцитів у крові та ЦК в порівнянні з групою морських свинок з даними експериментальними моделями хвороб, які не піддавалися впливу цього лікарського середника.

Одержані нами результати досліджень вказують на імунокоригуючу дію препарату L-аргініну на порушені маркери, як гуморального так і клітинного імунітету за умов розвитку ЕАА разом з ЕП на 24-у добу експерименту.

Таким чином, результати проведених комплексних біохімічних, імунологічних та імуноферментних досліджень показали, що поєднаний ЕАА з ЕП супроводжується розвитком оксидантного стресу, порушення показників системи оксиду азоту, дисбалансом прозапальних і протизапальних цитокінів, імунного гомеостазу в крові і легенях на усіх етапах їх формування з найбільшим ступенем вираження на 14-у і 24-у доби експерименту проти контрольної групи тварин.

Одержані нами результати досліджень дозволяють стверджувати, що за умов розвитку ЕАА асоційованим з ЕП відбувається пригнічення клітинного на тлі стимуляції гуморального імунітету, формування нітрооксидантного стресу, порушення цитокінового статусу, що вказує на їх участь та важливу роль в патогенезі, а саме одного з молекулярних (ліпідних) механізмів пошкодження тканин, цитокінопосередковані ушкодження клітин, імунокомплексного механізму пошкодження клітин при ЕАА і ЕП до лікування.

Застосування L-аргініну призводило до антиоксидантного, цитокіно- і імунокоригуючого впливу на порушені маркери метаболічних і імунних процесів за умов розвитку даних коморбідних захворювань.

Одержані нами результати досліджень дисертаційної роботи дозволяють розширити і поглибити знання про патогенез, удосконалити діагностику та лікування ЕАА поєднаного з ЕП.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення наукового завдання, яке полягає у встановленні патофізіологічних особливостей змін показників системи оксиду азоту, процесів вільнорадикального окислення та антиоксидантного захисту, маркерів цитокінового статусу, імунної системи в крові і легенях у патогенезі розвитку експериментального алергічного альвеоліту асоційованого з експериментальним пародонтитом. Експериментально обґрунтовано доцільність їх корекції за допомогою L-аргініну.

1. У механізмах розвитку експериментального алергічного альвеоліту асоційованого з пародонтитом важливу роль відіграють значні порушення показників системи оксиду азоту, які спостерігаються на усіх етапах їх формування з досягненням максимальних величин на 24-у добу експерименту, а саме зростає вміст стабільних метаболітів оксиду азоту і сумарної активності синтази оксиду азоту відповідно на 110,0% ($P < 0,05$) і 133,3% ($P < 0,05$) та знижується рівень L-аргініну в легенях на 70,0% ($P < 0,05$) у порівнянні з групою інтактних тварин.

2. В динаміці формування експериментального алергічного альвеоліту, що поєднаний з пародонтитом відзначається активація процесів перекисного окислення ліпідів – підвищення вмісту дієнових кон'югатів і малонового діальдегіду в легенях відповідно на 76,6% ($P < 0,05$) і 82,0% ($P < 0,05$) на тлі пригнічення, як ферментативної так і неферментативної ланок антиоксидантного захисту – зниження активності супероксиддисмутази, каталази, вмісту церулоплазміну відповідно на 39,8% ($P < 0,05$), 40,8% ($P < 0,05$), 47,4% ($P < 0,05$) з найбільшою вираженістю на 24-у добу експерименту проти контрольної групи тварин, що можна охарактеризувати як прояв оксидантного стресу та із залученням у патологічний процес ліпідних механізмів пошкодження клітин.

3. Маніфестація експериментального алергічного альвеоліту та пародонтиту на усіх етапах свого розвитку зумовлює дисбаланс цитокінового профілю з перевагою на 14-у і 24-у доби експерименту, що проявляється підвищенням вмісту фактора некрозу пухлин -альфа та інтерлейкіну- 6 відповідно на 83,8% ($P<0,05$), 89,2% ($P<0,05$) та 68,4% ($P<0,05$), 71,9% ($P<0,05$) у поєднанні зі зниженням концентрації інтерлейкіну 10 у крові відповідно на 43,2% ($P<0,05$) та 44,3% ($P<0,05$) проти першої групи тварин, що свідчило про цитокін- опосередковане ураження тканинних структур органів та посилення в них патоімунного процесу і їх участь в механізмах формування цих експериментальних моделей хвороб.

4. Встановлено, що в динаміці (4-а, 7-а, 14-а доби) розвитку експериментального алергічного альвеоліту асоційованого з пародонтитом відбуваються помітні порушення імунного гомеостазу (з перевагою на 24-у добу експерименту), яке супроводжується пригніченням клітинної (зниженням вмісту Т-лімфоцитів на 40,8% ($P<0,05$) та стимуляцією гуморальної ланок імунітету (підвищенням рівня В-лімфоцитів і циркулюючих імунних комплексів у крові відповідно на 84,0% ($P<0,05$) і 70,2% ($P<0,05$) проти контролю, що вказує на наявність патогенного впливу імунокомплексного механізму пошкодження клітин.

5. Використання препарату L-аргініну тваринам з лікувальною метою призводило до антиоксидантного, цитокіно- і імунокоригуючого впливу на порушені маркери метаболічних і імунних процесів – зниження вмісту дієнових кон'югатів, малонового діальдегіду, стабільних метаболітів NO, сумарної активності NO синтази, ФНП- α , IL-6, В-лімфоцитів і ЦК та підвищення рівня Т-лімфоцитів, L-аргініну, активності СОД, КТ, ЦП, IL-10 в крові і легенях на 24-у добу розвитку експериментального алергічного альвеоліту з пародонтитом відносно групи тварин, які не піддавалися впливу цього лікарського середника.

Рекомендації щодо наукового і практичного використання здобутих результатів

Результати проведених імунологічних, імуноферментних та біохімічних досліджень дозволяють:

1. Впровадити на кафедрах патологічної фізіології і клінічних профільних кафедр (стоматології, пульмонології, алергології) медичних вишів результати дослідження, які дають змогу поглибити і розширити знання стосовно механізмів розвитку алергічного альвеоліту та пародонтиту.

2. Пропонувати для раннього виявлення та запобігання розвитку ускладнень і діагностики алергічного альвеоліту і пародонтиту досліджувати імунологічні та біохімічні маркери - цитокіни, ЦІК, ФНП- α , ІЛ-6, ІЛ-10, ДК, МДА, СОД, КТ, ЦП, стабільні метаболіти NO і сумарну активність NOS, L-аргініну в крові.

3. Пропонувати патогенетично обґрунтовану терапію з антиоксидантною, цитокіно- і імунокоригуючою дією порушених метаболічних і імунних процесів за допомогою застосування L-аргініну пацієнтам з алергічним альвеолітом асоційованим з пародонтитом з проявами дисбалансу показників системи оксиду азоту, порушення імунної системи, цитокінів, оксидантного стресу у разі проведених додаткових клінічних випробувань та підтвердження їх позитивних результатів.

4. Виражена антиоксидантна, цитокіно- і імунокоригуюча дія L-аргініну може бути застосована в комплексній терапії для хворих на ЕАА і пародонтит.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. 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.
2. 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.
3. Волотовська Н. В. Активність каталази на рівень малонового діальдегіду в печінці на тлі експериментальної ішемії-реперфузії кінцівки. *Довкілля і здоров'я* : матеріали XXI Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 22-24 квітня 2021 р. Тернопіль : Укрмедкнига, 2021. С. 14.
4. Волотовська Н. В. Динаміка окисної модифікації печінки на тлі експериментальної ішемії-реперфузії кінцівки, поєднаної з масивною крововтратою та механічною травмою. *Хірургія Донбасу*. 2018. Т. 7, № 4. С. 5-15.
5. Волотовська Н. В. Зміни глутатіонової системи в посттравматичному періоді на тлі експериментальної ішемії-реперфузії кінцівки. *Здобутки клінічної та експериментальної медицини* : матеріали підсумкової ІХІ наук.-практ. конф., 7 червня 2018р. Тернопіль : Укрмедкнига, 2018. С. 211.
6. Волотовська Н. В. Особливості динаміки активності каталази легень у післятравматичному періоді на тлі експериментальної ішемії-реперфузії кінцівки. *Вісник медичних і біологічних досліджень*. 2021. № 1. С. 29-36.
7. Волотовська Н. В. Порівняльна характеристика активності пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в печінці щура на тлі експериментального ішемічно-реперфузійного синдрому кінцівки. *Медичні перспективи*. 2020. Т. 25, № 4. С. 39-47.
8. Волотовська Н. В., Гудима А. А. Годована А. М. Механізми антиоксидантного захисту при експериментальній травмі та ішемічно-

реперфузійному синдромі кінцівки. *Фізіологічний журнал*. 2019. Т. 65, № 3, додаток. С. 95-96.

9. Воскресенский О. Н. Доклиническое изучения средств профилактики и лечения пародонтита: метод. рекомендации. К.: *Авиценна*. 2002. 16 с.

10. Гаврилов В. Б., Мишкорудная М. И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови. *Лабораторная диагностика ишемической болезни сердца*. К.: Здоровье, 1989. С. 170-171.

11. Гасюк Н. В., Єрошенко Г. А., Палій О. В. Сучасні уявлення про етіологію та патогенез хвороб пародонта. *Світ медицини та біології*. 2013. № 2. С. 207-211.

12. Генералізований пародонти і подагра: порівняння патогенетичних механізмів розвитку (огляд літератури) / Т. І. Пупін, К. А. Мороз, О. М. Виноградова та ін. *Клінічна стоматологія*. 2021. № 1. С. 44-53.

13. Гасюк Н. В., Єрошенко Г. А. Характеристика поліморфних варіантів ядерного фактора транскрипції NF-κB1 як предикторів розвитку генералізованого пародонтиту. *Галицький лікарський вісник*. 2015. № 3, ч. С. 13-16.

14. Глазунов О. А., Меладзе І. Н., Глазунова С. О. Особливості мікробіоценозупародонтальних кишень та стан місцевого імунітету у хворих на генералізований пародонтит на фоні ожиріння ускладненого метаболічним синдромом. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2017. Т. 16, № 1. С. 63-67.

15. Григоров С. М., Рузін Г. П., Чирик О. І. Стан перекисного окислення ліпідів й антиоксидантної активності тканин ротової порожнини в осіб молодого віку при лікуванні переломів нижньої щелепи. *Вісник проблем біології і медицини*. 2014. Вип. 4, т. 2. С. 308-311.

16. Годована О. І. Мартовлос А. І. Порушення адаптаційно-компенсаторних механізмів при генералізованому пародонтиті II-III ступеня важкості.

Матеріали XIII міжнародного медичного конгресу студентів та молодих учених. Тернопіль, 2009. С. 176.

17. Городецький О. Т. Активність трансаміназ у міокарді та сироватці крові при експериментальному пародонтиті та адреналіновому пошкодженні міокарда. *Клінічна стоматологія.* 2020. № 1. С. 71-77.

18. Городецький О. Т. Рівень цитокінів у крові у динаміці розвитку пародонтиту та адреналінового пошкодження міокарда. *Нове та традиційне у дослідженнях сучасних представників медичної науки: матеріали міжнарод. наук.-практ. конф., 21-22 лютого 2020р.* Львів, 2020. С. 96-98.

19. Городецький О. Т., Регеда М. С. Вміст продуктів ліпопероксидації та активність ензимів антиоксидантної системи в міокарді у динаміці формування експериментального пародонтиту. *Медична та клінічна хімія.* 2019. Т. 21, № 2. С. 44-48.

20. 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. С. 93-98.

21. 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. С. 38-42.

22. Данилевський М. Ф., Борисенко А. В. Вплив мікрофлори на перебіг та лікування генералізованого пародонтиту. *Матеріали II (IX) з'їзду Асоціації стоматологів України.* К., 2004. С. 214-216.

23. Дисрегуляторні механізми ушкодження слинних залоз та пародонта за умов надлишкового утворення оксиду азоту / В. О. Костенко та ін. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини.* 2013. № 2. С. 254.

24. Дмитренко Н. П., Кишко Т. О., Шандренко Г. С. Аргинин: биологическое действие, влияние на синтез оксида азота. *Український хіміотерапевтичний журнал*. 2008. № 1-2. С. 137-140.

25. Добрянський С. Б. Порухення функціонального стану прооксидантно-антиоксидантної системи у кістковому мозку морських свинок при експериментальному алергічному альвеоліті та їх корекція тіотриазоліном. *Одеський медичний журнал*. 2010. № 3. С. 34-35.

26. Дурягіна Л. Х., Седих В. П., Дорофєєва О. В. Стан системного та місцевого імунітету хворих із одночасним ураженням тканин пародонта і СОПР при поєднанні з депресивними розладами. *Вісник проблем біології і медицини*. 2014. № 2, т. 1. С. 140-145.

27. Заболотний Т. Д., Шилівський І. В., Немеш О. М. Поширеність захворювань пародонта в пацієнтів з сечокам'яною хворобою. *Імплантологія. Пародонтологія. Остеологія*. 2010. № 2. С. 81-85.

28. Заболотний Т. Д., Гонта З. М., Слаба О. М. Вплив психосоматичних порушень на розвиток захворювань пародонта. *Імплантологія. Пародонтологія. Остеологія*. 2007. № 6. С. 69-71.

29. Заболотний Т. Д., Залізник М. С. Мікробіоценоз пародонтальних кишень у хворих генералізованим пародонтитом з супутнім остеоартрозом. *Вісник стоматології*. 2011. № 3. С. 37-40.

30. Загородна П. С., Громович А. В., Одинець М. О. Кардіопротекція завдяки біологічним ефектам L-аргініну місце комбінованих препаратів. *Ліки України*. 2015. № 7. С. 36-40.

31. Зубачик В. М., Яричківська Н. В. Роль оксиду азоту в гомеостазі тканин пародонта (огляд літератури). *Буковинський медичний вісник*. 2016. Т. 20, № 2. С. 194-198.

32. Казмірчук В. Є. Клінічна імунологія і алергологія. Вінниця : Нова книга, 2006. 526 с.

33. Кімак Г. Б., Мельничук Г. М. Зміни показників перекисного окислення ліпідів і перекисного окислення білків у ротовій рідині хворих на

генералізований пародонтит молодих осіб внаслідок комплексного лікування. *Інновації в стоматології*. 2018. № 1. С. 17-21.

34. Керівництво до практичних занять з біохімії Алейникова Т. Л., Рубцова Г. В., Павлова Н.А. М. 2000.128 с.

35. Кононова О. В. Ефективність лікування загостреного перебігу генералізованого пародонтиту II-III ступеня. *Сучасна стоматологія*. 2020. № 2. С. 24-28.

36. Ковалевська Л. А, Горбенко Т. Н, Телятніков О. В. Особливості гострого екзогенного алергічного альвеоліту; труднощі в діагностиці. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2019. № 4. С. 112-122.

37. Коваленко О. В., Костенко В. О. NO- залежні зміни продукції аніон-радикала в нижньощелепних слинних залозах за умов експериментального сіалоаденіту. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2011. Т. 11, № 2. С. 42-45.

38. Ковальська М. Є. Активність супероксиддисмутази в тимусі морських свинок за умов розвитку екзогенного алергічного альвеоліту. *Сучасні погляди на актуальні питання теоретичної, експериментальної та практичної медицини* : міжнарод. наук.-практ. конф., м. Одеса 15-16 грудня 2017. Одеса, 2017. С. 45-46.

39. Ковальська М. Є. Зміни активності каталази в легенях морських свинок в динаміці формування експериментального алергічного альвеоліту. *Охорона та захист здоров'я людини в умовах сьогодення* : збірник матеріалів міжнарод. наук.-практ. конф., м. Київ 3-4 листопада 2017. Київ, 2017. С. 5-6.

40. 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. С. 47-50.

41. 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. Т. 19, № 4. С. 93-98.

42. 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. 5-10.

43. Ковальська М. Є., Жуковський В. С., Байда М. Л. Зміни окремих показників прооксидантної та антиоксидантної систем в тимусі тварин при експериментальному алергічному альвеоліті в умовах стресу та їх корекція. *Світ медицини та біології*. 2019. № 3 С. 191-193.

44. Колб В. Г. Определение активности церулоплазмينا в крови. *Справочник по клинической химии*. 1982. С. 290-291.

45. Коробейникова Э. Н. Модификация определения продуктов ПОЛ в реакции с тиобарбитуровой кислотой. *Лаб. дело*. 1989. № 7. С. 8-10.

46. Кресюн В. Й., Годован В. В., Пиндус В. Б. Вплив тіотриазоліну на показники прооксидантної і антиоксидантної системи в крові при експериментальному алергічному альвеоліті в умовах адреналінового пошкодження міокарда. *Одеський медичний журнал*. 2015. № 1. С. 14-16.

47. Кузенко Є. В., Романюк А. М. Запальні захворювання пародонта: патогенез та морфогенез : монографія. Суми : СумДУ, 2016. 137 с.

48. Кулигіна В. М., Поліщук О. В. Порухення збалансованості факторів пошкодження і захисту змішаної слини при ураженні тканин пародонта у хворих на дисбактеріоз кишечника. *Вісник Вінницького національного медичного університету*. 2011. Т. 15, № 2. С. 274-275.

49. Ляшенко Л. І., Денисенко С. В. Костенко В. О. Роль транскрипційного ядерного фактора κВ у механізмах порушень вільнорадикальних процесів і дезорганізації сполучної тканини пародонта за умов експериментального метаболічного синдрому. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2014. Т. 14, № 1. С. 97-100.

50. Мазур І. П. Клініко- морфологічна оцінка перебігу генералізованого пародонтитів пацієнтів з ішемічною хворобою серця. *Сучасна стоматологія*. 2018. № 2. С. 36-39.

51. Матолінець Т. М., Матолінець О. М. Вміст продуктів перекисного окислення ліпідів у селезінці при експериментальному алергічному альвеоліті. *Анатомо-хірургічні аспекти дитячої гастроентерології* : матеріали 3-го наукового симпозіуму. Чернівці, 2012. С. 138.

52. Матолінець Т. М., Матолінець О. М. Корекція змін стану про- та антиоксидантної систем у тварин за умов експериментального алергічного альвеоліту. *Медична хімія*. 2013. Т. 15, № 1. С. 116-119.

53. Матолінець Т. М. Стан про- та антиоксидантної систем у кістковому мозку тварин з експериментальним алергічним альвеолітом. *Практична медицина*. 2012. № 6. С. 158-161.

54. Меншиков В. В. Лабораторные методы исследования в клинике. М. 1987. 292 с.

55. Мельничук Г. М. Генералізований пародонтит і пародонтоз: маркери спадкової схильності, патогенетичні механізми метаболічних порушень та їх комплексна корекція: автореф. дис. д-ра мед. наук: спец. 14.01.22 “Стоматологія“. Одеса, 2008. 33 с.

56. Мисула І. Р., Цвинтарна І. Я. Імунологічні порушення та зміни пероксидного окиснення ліпідів у патогенезі пародонтиту при нормоергічному типі запалення. *Вісник наукових досліджень*. 2012. № 4. С. 69-71.

57. Олекшій 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. С. 86-91. DOI: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.5593358>.

58. Олекшій П. В. Особливості зрушень стану протеїназно-інгібіторної системи в тканинах пародонта за умов формування експериментального пародонтиту та іммобілізаційного стресу. *Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія*. 2021. № 3-4. С. 28-32.

59. Олекшій П. В. Роль порушень імунологічної реактивності за умов формування експериментального пародонтиту та іммобілізаційного стресу.

Актуальні проблеми транспортної медицини. 2021. № 3. С. 106-110. DOI: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.5590532>.

60. Орехов О. О., Кириллов Ю. А. Патоморфология легких и микроциркуляторного русла малого круга кровообращения при хроническом экспериментальном аллергическом альвеолите. *Архив патологии.* 1985. № 10. С. 54-61.

61. Особливості змін фагоцитарної активності лейкоцитів в крові за умов формування поєднаної патології експериментального пародонтиту та адреналінового пошкодження міокарда та їх корекції корвітином / О. Т. Городецький, М. С. Регеда, Т. М. Городецький та ін. *Актуальні проблеми транспортної медицини.* 2020. № 1. С. 160-166.

62. Пасічник М. А. Активність каталази в печінці в динаміці розвитку експериментального алергічного альвеоліту. *Матеріали XVII Міжнародного медичного конгресу студентів і молодих вчених, 22-24 квітня 2013 р. Тернопіль, 2013.* С. 250.

63. Пасічник М. А. Вміст азоколагену в легенях морських свинок при алергічному альвеоліті. *Анатомо-хірургічні аспекти дитячої гастроентерології: матеріали 3-го наукового симпозіуму, 20 квітня 2012 р. Чернівці, 2012.* С. 143-144.

64. Пасічник М. А. Динаміка зміни рівня азоальбуміну в печінці морських свинок при алергічному альвеоліті (АА). *Бюллетень XII чтений им. В. В. Подвысоцкого.* Одесса, 2014. С. 192-193.

65. Пасічник М. А. Особливості зрушень прооксидантно-антиоксидантних процесів у легенях за умов розвитку експериментального алергічного альвеоліту та їх корекція тіотриазоліном. *Вісник морської медицини.* 2015. № 3. С. 19-22.

66. Пасічник М. А. Порухення процесів вільнорадикального окиснення і антиоксидантного захисту в печінці при експериментальному алергічному альвеоліті та їх корекція тіотриазоліном. *Вісник наукових досліджень.* 2015. № 1. С. 112-113.

67. Пасічник М. А. Стан протеїназо-інгібіторної системи в печінці за умов формування експериментального алергічного альвеоліту та корекція його порушень тіотриазоліном. *Медична хімія*. 2015. № 1. С. 72-74.

68. Патолофізіологія / Ю. В. Быць, Г. М. Бутенко, А. И. Гоженко и др. К. : Медицина, 2015. 744 с.

69. Пиндус В. Б. Активність каталази в міокарді в умовах розвитку експериментального алергічного альвеоліту. *Актуальні питання експериментальної та клінічної патофізіології* : матеріали VI Пленуму наукового товариства патофізіологів України та науково-практичної конференції за участю міжнародних спеціалістів (Вінниця, 23-25 вересня 2014 р.). Вінниця, 2014. С. 79-80.

70. Пиндус В. Б. Вміст продуктів перекисного окислення ліпідів у міокарді в динаміці формування експериментального алергічного альвеоліту. *Матеріали XVII міжнародного медичного конгресу студентів і молодих вчених* (Тернопіль, 22-24 квітня 2013 р.). Тернопіль, 2013. С. 251.

71. Пиндус В. Б. Дія препарату тіотриазоліну на фагоцитарну активність лейкоцитів у крові тварин з експериментальним алергічним альвеолітом за умов адреналінового пошкодження міокарда. *Медична та клінічна хімія*. 2016. Т. 18, № 2. С. 35-37.

72. Пиндус В. Б. Коригуючий вплив тіотриазоліну на порушені показники клітинного та гуморального імунітету при експериментальному алергічному альвеоліті в умовах адреналінового пошкодження міокарда. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2016. № 3. С. 60-61.

73. Пиндус В. Б. Особливості змін активності супероксиддисмутази в міокарді в умовах розвитку експериментального алергічного альвеоліту. *Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм* : матеріали VI наук.-практ. конф. (Тернопіль, 31 жовтня-1 листопада 2013 р.). Тернопіль, 2013. С. 273.

74. Пиндус В. Б. Особливості змін показників прооксидантної системи у легенях в умовах розвитку експериментального алергічного альвеоліту на тлі

адреналінового пошкодження міокарда та їх корекція тіотриазоліном. *Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм* : матеріали VII наук.-практ. конф. (Тернопіль, 30-31 жовтня 2014 р.). Тернопіль, 2014. С. 258.

75. 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. С. 5-7.

76. 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.

77. Прохорова М. И. Методы биохимических исследований. Л. 1982. 272 с.

78. Регеда М. С., Галій-Луцька В. В. Особливості змін деяких параметрів клітинної та гуморальної ланок імунної системи за умов експериментального відтворення алергічного альвеоліту при іммобілізаційному стресі. *Вісник медичних і біологічних досліджень*. 2022. № 3. С. 41-48.

79. Регеда М. С., Любінець Л. А., Щепанський Б. Ф. Особливості імунного гомеостазу в динаміці розвитку експериментальної бронхіальної астми. *Вісник наукових досліджень*. 2018. № 2. С. 133-135.

80. Регеда М. С., Щепанський Б. Ф. Зміни показників системи перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи в легенях за умов розвитку експериментальної бронхіальної астми при хронічному пародонтиті та їх корекція тіотриазоліном. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2018. Т. 17, № 2. С. 70-74.

81. Регеда М. С., Гришко Р. Ю. Екзогенний алергічний альвеоліт. Вид. друге, доп. та перероб. Львів, 2007. 200 с.

82. Регеда М. С., Олекшій П. В. Вплив тіоцетаму на порушені показники протеїназо-інгібіторної системи в тканинах пародонта за умов формування

експериментального пародонтиту та іммобілізаційного стресу. *Вісник морської медицини*. 2022. № 4. С. 73-77. DOI: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.7569987>.

83. Регеда М. С., Олекшій П. В. Дія тіоцетаму на змінені маркери неспецифічної резистентності за умов формування експериментального пародонтиту та іммобілізаційного стресу. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2022. № 4. С. 67-70.

84. Регеда М. С., Галій-Луцька В. В. Визначення ефективності корвітину та тіотриазоліну щодо динаміки відхилень параметрів системи оксиду азоту при експериментальному алергічному альвеоліті в умовах іммобілізаційного стресу. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2023. № 4. С. 113-124.

85. 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. С. 132-145.

86. 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. С. 164-171.

87. Регеда М. С., Галій-Луцька В. В. Особливості змін інтерлейкіну-6 крові в динаміці розвитку іммобілізаційного стресу. *Бюлетень XXI читання ім. В.В. Підвисоцького, 23-24 червня 2022. Одеса, 2022. С. 91.*

88. Регеда М. С., Галій-Луцька В. В. Роль інтерлейкіну-6 в крові в патогенезі розвитку коморбідної патології – іммобілізаційного стресу та експериментального алергічного альвеоліту. *Особливості науково-педагогічного процесу в період пандемії COVID-19* : матеріали Пленуму Українського наукового товариства патофізіологів, 15-17 вересня 2022. Тернопіль, 2022. С. 71-72.

89. Регеда М. С., Колішецька М. А., Юревич В. Р. Вплив препарату «тіотриазолін» на зрушення імунної системи в крові морських свинок за умов

формування експериментальної бронхіальної астми. *Медична та клінічна хімія*. 2015. Т. 17, № 2. С. 52-55.

90. 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. С. 107-111. DOI: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.5837838>.

91. Регеда М. С., Олекшій П. В. Значення порушень метаболізму оксиду азоту для патогенезу розвитку експериментального пародонтиту та іммобілізаційного стресу. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2022. № 3. С. 78-83. DOI: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.7188148>.

92. 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. С. 142-148.

93. Регеда М. С., Олекшій П. В. Стан прооксидантної та антиоксидантної системи в тканинах пародонта в динаміці розвитку експериментального пародонтиту та іммобілізаційного стресу та корекція їх порушень тіоцетамом. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2021. № 4. С. 121-127. DOI: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.5590437>

94. Регеда М. С., Регеда-Фурдичко М. М., Гайдучок І. Г. Екзогенний алергічний альвеоліт. Видання третє, доп. та пер. Львів, 2022. 238 с.

95. Регеда М. С., Сольвар З. Л. Особливості зрушень про- та протизапальних цитокінів у крові мурчаків за умови розвитку експериментального пародонтиту та експериментального альвеоліту та їх фармакологічна корекція. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2023. № 1-2. С. 158-163. DOI: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.7617488>

96. Регеда С. М. Роль порушень імунних процесів в патогенезі формування пародонтиту на тлі експериментальної пневмонії та корекції тіотриазоліном. *Journal of Education, Health and Sport*. 2017. Vol. 7, № 1. P. 350-358.

97. Регеда С. М. Роль окремих цитокінів у розвитку експериментальної пневмонії та пародонтиту. *Медична наука та практика: виклики і сьогодення* : зб. тез наукових робіт учасників міжнарод. наук.-практ. конф., 21-22 серпня 2020 р. Львів, 2020. С. 77-78.

98. 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.

99. Регеда С. М. Роль порушень імунних процесів в патогенезі формування пародонтиту на тлі експериментальної пневмонії та корекції тіотриазоліном. *Journal of Education, Health and Sport*. 2017. Vol. 7, № 1. P. 350-358.

100. Регеда С. М. Стан та роль протеїназно-інгібіторної системи в легенях за умов розвитку пневмонії та пародонтиту. *Сучасні уявлення щодо патогенезу запалення: місцеві та системні механізми* : матеріали наук.-практ. конф. з міжнарод. участю Галицькі читання, 19-20 вересня 2019 р. Івано-Франківськ, 2019. С. 55-57.

101. Регеда С. М., Фурдичко Л. О., Регеда-Фурдичко М. М. Порушення імунного гомеостазу в ранній період розвитку експериментальної пневмонії. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2015. № 4. С. 52-54.

102. Решетняк М. І., Лісяний А. Г., Потапова Н. Г. Дослідження деяких показників системного та місцевого імунітету при хронічних запальних процесах ротової порожнини. *Імунологія та алергологія: наука і практика*. 2015. № 5. С. 76-80.

103. Різник Ю. Б. Ефективність застосування антиоксидантів у поєднанні з ангіопротектором в комплексному лікуванні хворих на генералізований пародонтит. *Практична медицина*. 2008. Т. 14, № 1. С.111-115.

104. Середюк І. Н. Клініко-патогенетичні особливості застосування протизапальних засобів та ангіопротекторів в комплексному лікуванні генералізованого пародонтиту: автореф. дис. канд. мед. наук. К., 2005. 20 с.

105. Сливка В. І. Ліпопероксидація у хворих на туберкульоз легень. *Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ- інфекція*. 2016. № 1. С. 108-111.

106. 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.

107. 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.

108. 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>

109. 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.

110. Сумбаев В. В., Ясинская И. М. Влияние ДДТ на активность синтазы оксида азота в печени, легких и головном мозге крыс. *Современные проблемы токсикологии*. 2000. № 3. С. 3-7.

111. Треумова С. І. Роль оксиду азоту, простагліну в патогенезі бронхолегеневої та серцево-судинної патології. *Вісник проблем біології і медицини*. 2013. Вип. 3, т. 2. С. 47-50.

112. Фастовець О. О., Матвеєнко Р. Ю. Зміни кровообігу в тканинах пародонта при застосуванні капи-протеза в лікуванні генералізованого пародонтиту. *Український стоматологічний альманах*. 2013. Т. 92. № 5. С. 64-67.

113. Хвороби органів дихання / Федорів Я.-Р. М., Регеда М. С., Гайдучок І. Г., та ін. ; за ред. Я.-Р. М. Федоріва. Львів : Магнолія 2006, 2011. 480 с.

114. Цвинтарна І. Я. Динаміка показників антиоксидантного захисту слизової оболонки пародонта за умов експериментального пародонтиту при змінній реактивності організму. *Медична та клінічна хімія*. 2015. Т. 17. № 1. С. 79-83.

115. Чекман И. С., Горчакова Н. А., Французова С. Б. Метаболитные и метаболитотропные препараты в системе кардио и органопротекции. Киев, 2009. 155 с.

116. Черета В. В. Мікрофлора як фактор виникнення запальних хвороб пародонта. *Український стоматологічний альманах*. 2007. № 1. С. 77-83.

117. Чоп'як В. В., Вальчук І. В., Гайдучок І. Г. Гіперімунокомплексний синдром в експерименті та клініці. *Вісник наукових досліджень*. 2007. № 1. С. 5-8.

118. Черемісіна В. Ф. Порівняльна характеристика активності процесів прооксидантної та антиоксидантної систем у крові та тканинах пародонта. *Ліки - людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів : II Міжнарод. наук.-практ. конф., Харків, 28-29 березня 2018. Харків, 2018. С. 312.*

119. Чернушенко Е. Ф., Когосова Л. С. Иммунология и иммунопатология заболевалия легких. К. : Здоров'я, 1981. 208 с.

120. Чугай О. О. Вплив кварцетину 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.

121. 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.*

122. 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.

123. 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.

124. 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.

125. Шнайдер С. А. Вплив хронічного стресу на перебіг запалення при експериментальному пародонтиті. *Вісник морської медицини*. 2011. № 2. С. 33-36.

126. Шнайдер С. А., Ульянов В. А. Порівняльна характеристика різних моделей хронічного генералізованого пародонтиту. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2010. № 2. С. 127-130.

127. Щепанський Б. Ф. Стан прооксидантно-антиоксидантної системи в тканинах пародонта за умов розвитку експериментальної бронхіальної астми. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2018. № 2. С. 218-221.

128. Atanasovska-Stojanovska A. Modern Approach to the Identification and Elimination of Periodontal Infection. *Macedonian Journal of Medical Sciences*. 2012 Vol. 5, № 2. P. 215-221.

129. 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>

130. Bayeva M., Ardehali H. Mitochondrial dysfunction and oxidative damage to sarcomeric proteins. *Curr. Hypertens. Rep.* 2010. Vol. 12, № 6. P. 426-432.

131. 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.

132. Böger R. H. The pharmacodynamics of L-arginine. *J. Nutr.* 2007. Vol. 137, № 6, suppl. 2. P. 1650-1655.

133. 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.

134. Cano A., Perez-Moreno M., Rodrigo I. The transcription factor snail controls epithelial-mesenchymal transitions by repressing E-cadherin expression. *Nat. Cell. Biol.* 2000. Vol. 2, № 2. P. 76-83.

135. Chatterjee A., Catravas J. D. Endothelial nitric oxide (NO) and its pathophysiologic regulation. *Vascul. Pharmacol.* 2008. Vol. 49, № 4-6. P. 134-140.

136. Costabel V. Allergic alveolitis. *Therapiewoche.* 1981. Bd. 31. № 5. P. 688-693.

137. Cox A., Rolgering H. Extrinsic allergic alveolitis caused by spores of the oyster mushroom *Pleurotus*. *Europ. Resp. J.* 1988. Vol. 1. № 5. P. 466-468.

138. Crosslinking by advanced glycation end products increases the stiffness of the collagen network in human articular cartilage: A possible mechanism through which age is a risk factor for osteoarthritis / N. Verzijl, J. DeGroot, Z. C. Ben et al. *Arthritis Rheum.* 2002. Vol. 46. P. 114-123.

139. Crystal R. G. Are the smoking-induced diseases an acquired form of cystic fibrosis?. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2013. Vol. 188, № 11. P. 1277-1278.

140. Dawson J. K., Fewins H. E., Desmond J. Fibrosing alveolitis in patients with rheumatoid arthritis as assessed by high resolution computed tomography, chest radiography, and pulmonary function tests. *Thorax.* 2001. Vol. 6, № 8. P. 622-627.

141. Dendritic cells, antibodies reactive with oxLDL, and inflammation / J. G. Tew, M. E. El Shikh, R. M. El Sayed, H. A. Schenkein. *J. Dent. Res.* 2012. Vol. 91, №1. P. 8-16.

142. Diabetes prolongs the inflammatory response to a bacterial stimulus through cytokine dysregulation / G. Naguib, H. Al-Mashat, T. Desta et al. *J. Invest. Dermatol.* 2004. Vol. 123, № 1. P. 87-92.
143. 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.
144. Donn R. P., Ray D. W. Macrophage migration inhibitory factor: molecular, cellular and genetic aspects of a key neuroendocrine molecule. *J. Endocrinol.* 2004. Vol. 182, № 1. P. 1-9.
145. Effects of HMGB1 on ischemia-reperfusion injury in the rat heart / S. Oozawa, S. Mori, T. Kanke et al. *Circ. J.* 2008. Vol. 72, № 7. P. 1178-1184.
146. El-Zammar O. A., Katzenstein A.-L. A. Pathological diagnosis of granulomatous lung disease: a review. *Histopathology.* 2007. Vol. 50, № 3. P. 289-310.
147. El-Zammar O., Rosenbaum P., Katzenstein A. L. Proliferative activity in fibrosing lung diseases: a comparative study of Ki-67 immunoreactivity in diffuse alveolar damage, bronchiolitis obliterans-organizing pneumonia, and usual interstitial pneumonia. *Hum. Pathol.* 2009. Vol. 40, № 8. P. 1182-1188.
148. Evidence of the presence of T helper type 17 cells in chronic lesions of human periodontal disease / C. R. Cardoso, G. P. Garlet, G. E. Crippa et al. *Oral Microbiol. Immunol.* 2009. Vol. 24, № 1. P. 1-6.
149. Expression of receptor activator of nuclear factor- κ B ligand by B cells in response to oral bacteria / X. Han, X. Lin, A. R. Seliger et al. *Oral Microbiol. Immunol.* 2009. Vol. 24, № 3. P. 190-196.
150. Fried R. Enzymatic and non-enzymatic assay of superoxide anion. *Biochemie.* 1975. Vol. 57, № 5. P. 657-660.
151. Garlet G. P. Destructive and protective roles of cytokines in periodontitis: a re-appraisal from host defense and tissue destruction viewpoints. *J. Dent. Res.* 2010. Vol. 89, № 12. P. 1349-1363.
152. Geoghegan F., Wong R. W. K., Rabie A. B. M. Inhibitory effect of quercetin on periodontal pathogens in vitro. *Phytother. Res.* 2010. Vol. 24, № 6. P. 817-820.

153. Gingival crevicular fluid levels of interleukin-1beta and glycemic control inpatients with chronic periodontitis and type 2 diabetes / S. P. Engebretson, J. Hey-Hadavi, F. J. Ehrhardt et al. *J. Periodontol.* 2004. Vol. 75, № 9. P. 1203-1208.
154. Group 2 innate lymphoid cells are critical for the initiation of adaptive T helper 2 cell-mediated allergic lung inflammation / T. Y. Halim, C. A. Steer, L. Mathä et al. *Takei. Immunity.* 2014. Vol. 40, № 3. P. 425-435.
155. 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.
156. Hajishengallis G. Immunomicrobial pathogenesis of periodontitis: keystones, pathobionts, and host response. *Trends Immunol.* 2014. Vol. 35, № 1. P. 3-11.
157. Hao L., Li J. L., Yue Y. Application of interleukin-1 genes and proteins to monitor the status of chronic periodontitis. *Int. J. Biol. Markers.* 2013. Vol. 28. № 1. P. 92-99.
158. Holmes R., Masters C. Epigenetic interconversions of the multiple forms of mouse liver catalase. *FEBS Lett.* 1970. Vol. 11, № 1. P. 45-48.
159. Holmes T. J., O'Connor J. N. Blind deconvolution of 3D transmitted light brightfield micrographs. *J. Microsc.* 2000. Vol. 200, pt. 2. P. 114-127.
160. Horodetsky 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.
161. Iwano M., Plieth D., Danoff T. M. Evidence that fibroblasts derive from epithelium during tissue fibrosis. *J. Clin. Invest.* 2002. Vol. 110, № 3. P. 341-350.
162. 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.
163. Kameritsch P., Renkawitz J. Principles of Leukocyte Migration Strategies. *Trends. Cell Biol.* 2020. Vol. 30, № 10. P. 818-832.
164. Kang S., Tanaka T., Narazaki M. Targeting Interleukin-6 Signaling in Clinic. *Immunity.* 2019. Vol. 50, № 4. P. 1007-1023.

165. Kats A., Bege T., Yucel-Lindberg T. Inhibition of microsomal prostaglandin E synthase-1 by aminothiazoles decreases prostaglandin E2 synthesis in vitro and ameliorates experimental periodontitis in vivo. *FASEB J.* 2013. Vol. 27, № 6. P. 2328-2341.

166. Komatsu Y., Tai H., Galicia J. C. Interleukin-6 (IL-6)–373 A9T11 allele is associated with reduced susceptibility to chronic periodontitis in Japanese subjects and decreased serum IL6 level. *Tissue Antigens.* 2005. Vol. 65, № 1. P. 110-114.

167. Kornman K. S. Genetic variation of cytokine for adult periodotitis. *Ann. Periodontol.* 1998. Vol. 3. № 1. P. 327-338.

168. 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.

169. Levels of interleukin-17 in gingival crevicular fluid and in supernatants of cellular cultures of gingival tissue from patients with chronic periodontitis / R. Vernal, N. Dutzan, A. Chaparro et al. *J. Clin. Periodontol.* 2005. Vol. 32, № 4. P. 383-389.

170. Lindroth A. M., Park Y. J. Epigenetic biomarkers: a step forward for understanding periodontitis. *J. Periodont. Implant. Sci.* 2013. Vol. 43, № 3. P. 111-120.

171. Liu Y., Li J., Chang L. Influence of periodontal therapy on serum interleukin–6 and carotid metalloproteinases in animals with chronic periodontitis associated with atherosclerosis. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi.* 2014. Vol. 49, № 3. P. 155-160.

172. Makrides M., Ochoa J. B., Szajewska H. The Importance of Immunonutrition. *Vevey. S.* 2013. Vol. 77. P. 1-15.

173. Modulation of Wnt5a expression by periodontopathic bacteria / H. Nanbara, N. Wara-Aswapati, T. Nagasawa et al. *PLoS ONE.* 2012. Vol. 7, №. 4. P. Art. numb. e34434.

174. Nath S. G., Raveendran R. Microbial dysbiosis in periodontitis. *J. Indian Soc. Periodontol.* 2013. Vol. 17, № 4. P. 543-545.

175. Osteoporosis in the Cohen diabetic rat: Correlation between histomorphometric changes in bone and microangiopathy / G. Amir, E. Rosenmann, Y. Sherman et al. *Lab. Invest.* 2002. Vol. 82, № 10. P. 1399-1405.

176. 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.

177. Periodontal infections contribute to elevated systemic C-reactive protein level / B. Noack, R. J. Genco, M. Trevisan et al. *J. Periodontol.* 2001. Vol. 72, № 9. P. 1221-1227.

178. 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

179. Rittig A., Jacobsen F., Steinstraesser L. Introduction of human β -defensin-3 into cultured human keratinocytes and fibroblasts by recombinant adenovirus vectors - are primary cells able to secrete sufficient amounts of transgene to exhibit biological activity in vitro?. *Burns.* 2011. Vol. 37, № 7. P. 1268-1269.

180. 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.

181. 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>

182. Schmidt H., Hofmann H., Schindler U. NO from NO synthase USA: *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 1996. Vol. 93. P. 14492-14497.

183. 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>

184. 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/>

185. 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>

186. Stress and the periodontal diseases: effects of catecholamines on the growth ofperiodontal bacteria in vitro / A. Roberts, J. B. Matthews, S. S. Socransky et al. *Oral Microbiol. Immunol*. 2002. Vol. 17, № 5. P. 296-303.

187. 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.

188. Wahasugui T. C., Nakano V., Piazza R. M. Phenotypic and genotypic features of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* isolated from patients with periodontal disease. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis*. 2013. Vol. 75. № 4. P. 366-372.

189. 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>

190. 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.1

„ЗАТВЕРДЖУЮ”

165

Проректор з наукової роботи
Тернопільського національного медичного
університету ім. І.Я. Горбачевського
професор І.М. Кліщ

„31” *асо* 2023 р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Механізми формування експериментального алергічного альвеоліту та пародонтиту та їх корекція L-аргініном.
2. **Установа-розробник:** Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького кафедра патологічної фізіології.
Розроблювачі: Сольвар З.Л.
Джерело інформації: Регеда М. С., Сольвар З.Л. Особливості зрушень про- та протизапальних цитокінів у крові мурчаків за умови розвитку експериментального пародонтиту та експериментального альвеоліту та їх фармакологічна корекція. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2023. №1-2. (71-72), С. 153-163.
Базова установа, яка проводить впровадження: Тернопільський національний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського, кафедра патологічної фізіології
3. **Термін впровадження:** жовтень-листопад 2023 р.
4. **Форма впровадження:** В навчальний процес кафедри – лекційний курс та практичні заняття при розгляді теми «Патофізіологія органів дихання», «Гіпоксія», «Алергія».
5. **Зауваження та пропозиції:** Немає.

Відповідальний за впровадження:
Завідувач кафедри патологічної фізіології
Тернопільського національного медичного
університету ім. І.Я. Горбачевського,
доктор медичних наук, професор



О.В. Денефіль

ДОДАТОК А.2

„ЗАТВЕРДЖУЮ”

В.о. Першого проректора Івано-Франківського національного медичного університету
д.фарм.н., професор Андрій ГРИЦИК

„25”  2023 р.

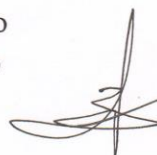
АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Механізми формування експериментального алергічного альвеоліту та пародонтиту та їх корекція L-аргініном.
2. **Установа-розробник:** Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького кафедра патологічної фізіології.
Розроблювачі: Сольвар З.Л.
Джерело інформації: Регеда М. С., Сольвар З.Л. Особливості зрушень про-та протизапальних цитокінів у крові мурчаків за умови розвитку експериментального пародонтиту та експериментального альвеоліту та їх фармакологічна корекція. *Актуальні проблеми транспортної медицини.* 2023. №1-2. (71-72), С. 153-163.
Базова установа, яка проводить впровадження: Івано-Франківський національний медичний університет, кафедра патологічної фізіології
3. **Термін впровадження:** жовтень-листопад 2023 р.
4. **Форма впровадження:** В навчальний процес кафедри – лекційний курс та практичні заняття при розгляді теми «Патофізіологія органів дихання», «Гіпоксія», «Алергія».
5. **Зауваження та пропозиції:** Немає.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патологічної фізіології

Івано-Франківського національного медичного університету, доктор медичних наук, професор
Заслужений діяч науки і техніки України



Любомир ЗАЯЦЬ

ДОДАТОК А.3**„ЗАТВЕРДЖУЮ”**

Проректор з науково-педагогічної
роботи закладу вищої освіти
Буковинського державного
медичного університету
доцент **Володимир ХОДОРОВСЬКИЙ**

„13” _____ 2023 р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Механізми формування експериментального алергічного альвеоліту та пародонтиту та їх корекція L-аргініном.
2. **Установа-розробник:** Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького кафедра патологічної фізіології.
Розроблювачі: Сольвар З.Л.
Джерело інформації: Регеда М. С., Сольвар З.Л. Особливості зрушень про- та протизапальних цитокінів у крові мурчаків за умови розвитку експериментального пародонтиту та експериментального альвеоліту та їх фармакологічна корекція. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2023. №1-2. (71-72), С. 153-163.
- Базова установа, яка проводить впровадження:** Буковинський державний медичний університет, кафедра патологічної фізіології
3. **Термін впровадження:** жовтень-листопад 2023 р.
4. **Форма впровадження:** В навчальний процес кафедри – лекційний курс та практичні заняття при розгляді теми «Патофізіологія органів дихання», «Гіпоксія», «Алергія».
5. **Зауваження та пропозиції:** Немає.

Відповідальний за впровадження:
завідувач кафедри патологічної фізіології
закладу вищої освіти
Буковинського державного медичного
університету, д. мед. н., проф.



Юрій РОГОВИЙ

ДОДАТОК А.4

„ЗАТВЕРДЖУЮ”

168

Проректор з наукової роботи
Львівського медичного університету
професор Ю.В. Федоров



14 листопада 2023 р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Механізми формування експериментального алергічного альвеоліту та пародонтиту та їх корекція L-аргініном.
2. **Установа-розробник:** Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького кафедра патологічної фізіології.
Розроблювачі: Сольвар З.Л.
Джерело інформації: Регеда М. С., Сольвар З.Л. Особливості зрушень про- та протизапальних цитокінів у крові мурчаків за умови розвитку експериментального пародонтиту та експериментального альвеоліту та їх фармакологічна корекція. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2023. №1-2. (71-72), С. 153-163.
- Базова установа, яка проводить впровадження:** Львівський медичний університет, кафедра анатомії, фізіології та патології.
3. **Термін впровадження:** жовтень-листопад 2023 р.
4. **Форма впровадження:** В навчальний процес кафедри – лекційний курс та практичні заняття при розгляді теми «Патофізіологія органів дихання», «Гіпоксія», «Алергія».
5. **Зауваження та пропозиції:** Немає.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри анатомії, фізіології та патології
Львівського медичного університету, доцент

Рябуха О.І.

ДОДАТОК А.5

„ЗАТВЕРДЖУЮ”

169

Перший проректор з науково-педагогічної
роботи Львівського національного
медичного університету
імені Данила Галицького
к.біол.н., доцент І.І. Солонинко

« 16 » 2023 р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Механізми формування експериментального алергічного альвеоліту та пародонтиту та їх корекція L-аргініном.
2. **Установа-розробник:** Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького кафедра патологічної фізіології.
Розроблювачі: Сольвар З.Л.
Джерело інформації: Регеда М. С., Сольвар З.Л. Особливості зрушень про-та протизапальних цитокінів у крові мурчаків за умови розвитку експериментального пародонтиту та експериментального альвеоліту та їх фармакологічна корекція. *Актуальні проблеми транспортної медицини.* 2023. №1-2. (71-72), С. 153-163.
- Базова установа, яка проводить впровадження:** Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра патологічної фізіології
3. **Термін впровадження:** жовтень-листопад 2023 р.
4. **Форма впровадження:** В навчальний процес кафедри – лекційний курс та практичні заняття при розгляді теми «Патофізіологія органів дихання», «Гіпоксія», «Алергія».
5. **Зауваження та пропозиції:** Немає.

Відповідальний за впровадження:
Завідувач кафедри патологічної фізіології
Львівського національного медичного
університету ім. Данила Галицького,
доктор медичних наук, професор

М.С. Регеда

ДОДАТОК Б

Список публікацій за темою дисертації:

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Сольвар З.Л. Характеристика змін окремих цитокінів у крові морських свинок за умови розвитку експериментального алергічного альвеоліту. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2022 р. № 4 (70), С. 113-117. <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.7495389>.

2. Регеда М.С., Сольвар З.Л. Особливості зрушень про- та протизапальних цитокінів у крові мурчаків за умови розвитку експериментального пародонтиту та експериментального альвеоліту та їх фармакологічна корекція. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2023 р. №1-2 (71-72), С. 158-163. <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.7617488>.

3. 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.

4. 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 (101). 90-93.

5. Solvar Z. The assesment of lipid peroxidation processes disturbances in animals` lungs in condition of experimental parodontitis development. *Journal of Education, Health and Sport*. 2022;Vol. № 12 (11) P. 367-370. <http://dx.doi.org/10.12775/JEHS.2022.12.11.049>

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

6. Сольвар З.Л. Порушення 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 2022р, Тернопіль. 2022. С. 66-67.

7. Сольвар З.Л. Оцінка стану прооксидантної та антиоксидатної систем у легенях за умови розвитку експериментального алергічного альвеоліту. VII Міжнародна науково-практична конференція „ Modern research in world science", 2- 4 жовтня 2022р., Львів. С.166.

ДОДАТОК В**АПРОБАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ:**

- пленуму Українського наукового товариства патофізіологів «Особливості науково-педагогічного процесу в період пандемії COVID-19» (Тернопіль, 2022) (публікація);

- XXI читання ім. В.В. Підвисоцького (Одеса, 2022) (публікація);