

УДК: 616.248-092:612.215.1.015.13-019]-085.274

РОЛЬ ПРОЦЕСІВ ПРОТЕОЛІЗУ ТА АНТИПРОТЕАЗНОГО ПОТЕНЦІАЛУ В БРОНХАХ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ БРОНХІАЛЬНІЙ АСТМІ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ ТІОТРИАЗОЛІНОМ

Колішецька М.А.

*Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького,
marta.kolishetska@gmail.com*

У експерименті на морських свинках показано, що бронхіальна астма (БА) супроводжується істотним дисбалансом протеїназо-інгібіторної системи (зростання протеолітичної активності на тлі дефіциту інгібіторів протеолізу). Інтенсивність процесів протеолізу, а саме рівень азоальбуміну, азоказеїну та азоколагену, зростають прямо пропорційно ступеню ураження і досягають максимуму в пізній період експерименту (на 33-тю добу БА). Паралельно фіксуємо зниження активності інгібіторів протеолізу - б1-інгібітора протеїназ та б2-макроглобуліну.

Аналіз результатів впливу запропонованої корекції на протеолітичну активність в бронхах вказує на те, що тіотриазолін проявляє коригуючу дію і сприяє відновленню балансу протеїназо-інгібіторної системи при експериментальній бронхіальній астмі.

Ключові слова: бронхіальна астма, азоальбумін, азоказеїн, азоколаген, б1-інгібітор протеаз, б2-макроглобулін, тіотриазолін.

Вступ

Бронхіальна астма (БА) є важливою проблемою в терапевтичній практиці, що обумовлено зростанням частоти захворювання серед усіх вікових груп [1]. Дебют захворювання частіше відзначається в ранньому віці й у 50-80% випадків – у дітей до 5 років. Саме цей період найважчий в аспекті верифікації діагнозу БА [2]. Незважаючи на численні фундаментальні дослідження тонких механізмів патогенезу, розробку нових селективних лікарських препаратів, створення спеціальних програм ВООЗ, у частині випадків не вдається досягти контролю цього захворювання [3,4].

З позиції сучасних знань однією з відмінних рис патогенезу БА є порушення регуляції функціонування різних адаптаційних систем, які забезпечують гомеостаз на рівні клітини й організму. Істотна роль серед них надається процесам вільнорадикального окиснення ліпідів, адренергічній системі, кори надниркових залоз [5,6]. У регуляції багатьох процесів життєдіяльності організму важливу роль

відіграють процеси протеолізу, які приймають участь в роботі систем згортання і фібринолізу, активації кінінової і ренін-ангіотензинової систем, системи комплекта, регуляторних пептидів і ряду інших [7]. При розвитку патології в багатьох випадках відбувається розбалансування регуляторних механізмів і розвиток дисбаланса в стані протеїназ і їх інгібіторів. Процеси протеолізу і перекисного окиснення ліпідів тісно взаємозв'язані один з одним [8, 9]. Під впливом багатьох факторів посилюються окисні процеси, які здатні приводити до активності антипротеазної системи і виникненню дисбалансу.

Одним із підходів до вирішення проблеми підвищення інгібіторного потенціалу та зменшення окисного є використання антиоксидантів. Питання антиоксидантної терапії у комплексному лікуванні хворих бронхолегеневою патологією неодноразово ставало предметом пильної уваги клініцистів. Проте роль впливу препаратів з антиоксидантними

властивостями на клінічний перебіг захворювання та стан протеїназ-інгібіторної системи у хворих бронхіальною астмою до кінця не вивчено [4, 10]. Тому проведення додаткових досліджень з цієї проблеми є актуальним завданням, яке допоможе підвищити ефективність лікування хворих.

У зв'язку з цим заслуговує на увагу вітчизняний препарат тіотриазолін, який виявляє антиоксидантні, мембраностабілізуючі, протиішемічні та протизапальні властивості. Антиоксидантні властивості тіотриазоліну проявляються завдяки наявності в структурі молекули тіотриазоліну тіолу сірки, для якої характерні окисно-відновні властивості, та третинного азоту, який зв'язує надлишок іонів водню. Тіотриазолін реагує з активними формами кисню та ліпідними радикалами за рахунок сильних відновлювальних властивостей тіольної групи і запобігає ініціюванню активних форм кисню шляхом реактивації антирадикальних ферментів – супероксиддисмутази, каталази і глутатіонпероксидази [11].

Тому метою нашої роботи було з'ясувати особливості змін показників протеїназо-інгібіторної системи в бронхах тварин з експериментальною бронхіальною астмою та провести їх корекцію тіотриазоліном.

Матеріал і методи дослідження

Всі експерименти на лабораторних тваринах були проведені при дотриманні принципів біоетики у відповідності з положенням Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986), Директиви Ради Європи 2010/63/EU, Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження», загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених першим національним конгресом України з біоетики (2001).

Експериментальні дослідження проводились на 72 морських свинках (самцях) масою 180 – 220 г, поділених на 6

груп по 12 тварин у кожній. До I групи (контроль) відносили інтактні морські свинки, до II- тварини з експериментальною БА (5-а доба), до III – морські свинки на 19-у добу модельного процесу, до IV - тварини з експериментальною БА (26-а доба), до V - мурчаки на 33-ю добу експерименту (до лікування тіотриазоліном) і до VI – тварини з модельним процесом БА після застосування тіотриазоліну. Для корекції порушень VI групі тварин вводився препарат тіотриазолін з розрахунку 100 мг/кг внутрішньом'язево з 23 доби експерименту впродовж 10 днів. З метою більш детального аналізу досліджуваних нами показників умовно виділяли два періоди розвитку експериментальної бронхіальної астми: ранній і пізній. Ранній період включав групу тварин із БА на 5-у та 19-у доби експерименту. Пізній – морські свинки на 26-у та 33-ю доби БА.

Експериментальна модель БА відтворювалась на морських свинках за методом В.І. Бабица (1979). Попередньо тварин одноразово сенсibiliзували нормальною кінською сироваткою (0,1 мл внутрішньочеревинно). Наступні три дні підряд вводили підшкірно 0,1 мл нормальної кінської сироватки (НКС) з вбитою в автоклаві БЦЖ (на 1 мг БЦЖ 1,0 мл НКС). Наступні 14 днів щоденно тварини протягом 30 хв. в щільно закритій камері за допомогою розпилювача піддавалися інгаляції НКС по 1,0 мл сироватки на кожну морську свинку. Після закінчення цього терміну кожні 7 днів морським свинкам проводили інгаляції НКС. Потім тварин декапітували і визначали стан протеїназо-інгібіторної системи в бронхах за загальною протеолітичною активністю – за лізисом азоальбуміну (розпад низькомолекулярних протеїнів), азоказеїну (розпад високомолекулярних протеїнів) і азоколагену (колагеноліз) та інгібіторів протеолізу за вмістом альфа 1-інгібітора протеїназ (б1-ІП), альфа-2-макроглобуліну (б 2-М) за методом Веремєнко К.Н., Голобородько О.П., 1988 [12]. Статистичне опрацювання одержаних

даних здійснювали за методом Стьюдента.

Результати досліджень та їх обговорення

При вивченні протеїназо-інгібіторної системи у бронхах морських свинок при експериментальній БА було встановлено, що в усі досліджувані доби експерименту мали місце вірогідні зміни показників у порівнянні з групою контролю. Також нами проводилось порівняння одержаних даних між різними дослідними групами тварин, які піддавались впливу антигенного чинника та зокрема тривалості його дії.

Аналіз рівня протеолізу ми вивчали за допомогою азоальбуміна, азоказеїна та азоколагена. Визначення рівня азоальбуміну в досліджуваному біологічному матеріалі (бронхи) на 19-у добу БА показало його збільшення на 7,1% ($p < 0,05$) при порівнянні з 5-ою добою експерименту. Прогресія активності цього показника відбувається і надалі відповідно на 19,4% ($p < 0,05$) і 45,9% ($p < 0,05$) на 26-у і 33-ю доби експерименту напроти мурчаків II групи. Подібна тенденція спостерігалась і з боку наступного показника протеолітичної активності - азоказеїну. Відмічаємо поступове підвищення даного показника в залежності від тривалості патологічного процесу: на 19-у, 26-у і 33-ю доби відповідно на 16,8% ($p < 0,05$), 33,7% ($p < 0,05$) і 57,4% ($p < 0,05$) відносно групи мурчаків на 5-у добу експерименту.

Відносно ще одного показника колагенолізу в бронхах, азоколагену, нами виявлено його суттєве збільшення в бронхах по мірі розвитку експериментальної БА. Підвищення даного маркера спостерігалось на 19-у добу на 23,8% ($p < 0,05$), на 26-у добу

на 28,6% ($p < 0,05$) і на 33-ю добу на 47,6% ($p < 0,05$) напроти п'ятої групи мурчаків.

Застосування тіотриазоліну, який має виражену антиоксидантну, імуномодельючу, мембраностабілізуючу дії, призводило до зниження вмісту показників протеїназ в бронхах відповідно азоальбуміна на 42% ($p < 0,05$), азоказеїну на 44% ($p < 0,05$) і азоколагена на 38,7% ($p < 0,05$) напроти морських свинок, яким лікування на 33-ю добу не проводили (рис. 1).

Під час дослідження б2-макроглобуліну в бронхах було виявлено достатнє зниження його концентрації на 59,2% ($p < 0,05$) на 19-у і на 45,1% ($p < 0,05$) на 26-у доби експерименту проти 5-ї доби модельного процесу БА. Далі, на 33-ю добу БА, встановлено ще активніше його зменшення на 76,8% ($p < 0,05$) в порівнянні з мурчаків II групи.

Аналогічний напрямок мали зміни з

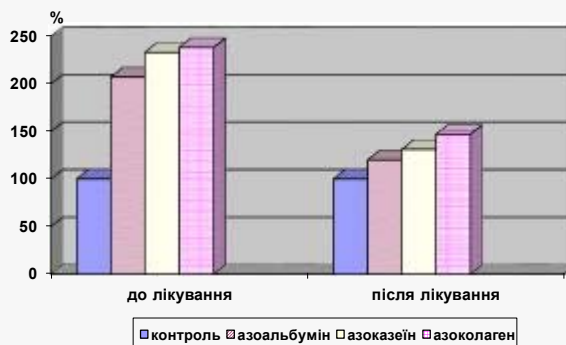


Рис.1. Вплив тіотриазоліну на рівень протеолізу в бронхах морських свинок у динаміці формування БА.

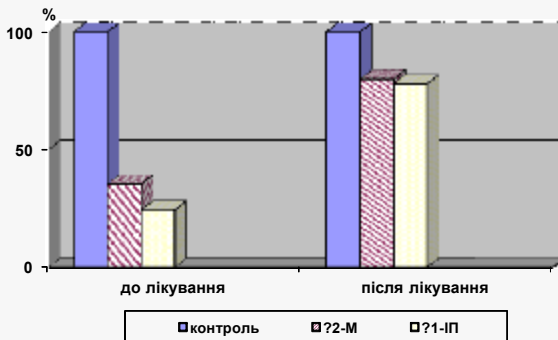


Рис.2. Вплив тіотриазоліну на рівень інгібіторів протеаз у бронхах морських свинок у динаміці формування БА.

боку наступного показника вмісту білкових інгібіторів– б1- ІП в бронхах. Фіксуємо його поступовий спад в залежності від тривалості патологічного процесу: на 19-у, 26-у і 33-ю доби б1- інгібітор протеаз знижується відповідно на 45% ($p \leq 0,05$), 64,7% ($p \leq 0,05$) і 80,6% ($p \leq 0,05$) відносно групи мурчаків на 5-у добу експерименту. Отже, результати досліджень інгібіторів протеїназ в бронхах за умов експериментальної БА встановили їх поступову депресію в залежності від тривалості алергічного процесу, особливо найбільше виражене в мурчаків п'ятої групи (33-я доба).

Результати введення тіотриазоліну показали ефективність та вагоме зростання активності б2-макроглобуліну в бронхах на 124,1% ($p \leq 0,05$), б1-інгібітора протеаз на 220% ($p \leq 0,05$) в порівнянні з групою тварин, які не піддавалися впливу цього препарату, що свідчить про позитивний його вплив на зазначені показники (рис.2).

Висновки

Оцінюючи результати біохімічних досліджень показників протеїназо-інгібіторної системи в бронхах, можна зробити висновок про істотний дисбаланс процесів протеолізу та антипротеазного потенціалу (зростання протеолітичної активності на тлі дефіциту інгібіторів протеолізу). Інтенсивність процесів протеолізу зростають прямо пропорційно ступеню ураження і досягають максимуму в пізній період експерименту (на 33-тю добу БА).

Аналіз результатів впливу запропонованої корекції на протеолітичну активність в бронхах вказує на те, що тіотриазолін проявляє коригуючу дію і сприяє відновленню балансу протеїназо-інгібіторної системи з вагомим покращенням досліджуваних маркерів при експериментальній бронхіальній астмі.

Література

1. Костроміна В.П. Алгоритм своєчасної діагностики бронхіальної астми у дітей / В.П.Костроміна. О.О.Речкіна, В.В.Куц і ін.//Актуальні питання фармацевтичної і

2. медичної науки та практики.- №3(13), 2013.- С. 38- 42.
2. Аліфанова С.В. Фактори ризику розвитку бронхіальної астми у дітей. / С.В. Аліфанова //Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики – 2013. - №3 (13). – С.4 – 7.
3. Бронхіальна астма. / М.С.Регада, М.М. Регада, Л.О. Фурдичко, М.А. Колішецька. Вид. п'яте, доп. та переробл. – Львів, 2012. – 147с.
4. Global strategy for asthma management and prevention. National institutes of health. National Heart, Lung and Blood Institute. Revised 2014. Available at: <http://www.ginasthma.org>
5. Марусик У.І. Показники клітинного імунітету крові у хворих на бронхіальну астму дітей, враховуючи астма-фенотипи / У.І.Марусик, О.В.Макарова // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики.- №3(13), 2013.- С. 47-49.
6. Mechanisms of peripheral tolerance to allergens / O.U.Soyer, M.Akdis, J.Ring [at al.]/Allergy. – 2013. - №68. – P.161-170.
7. Local and systemic immunological parameters associated with remission of asthma symptoms in children / S.Waserman, P.Nair, D.Snider [at al.]/Allergy, asthma and clinical immunology. – 2012. V.8, Is.16. – P.1-14.
8. Щербак В.В. Влияние применения ингибиторов протеиназы антиоксидантов на формирование воспаления при экспериментальной пневмонии / В.В.Щербак, А.В.Кубышкин // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2011. – Т.6. - № 3. – С.57-63.
9. Untangling asthma phenotypes and endotypes /Aganche I., Akdis C., Jutel M. et al. // Allergy. – 2012. – V. 67, Is. 7. – P. 835–846.
10. The Heterogeneity of Asthma Phenotypes in Children and Young Adults / Hesselmar, B., Enelund, A.-C., Eriksson, B. et. al.// Journal of Allergy, 2012. P. 1–6.
11. Вплив тіотриазоліну на стан про- та антиоксидантного балансу у м'яких тканинах пародонта за умов хронічного стресу/ Г.В. Опанасенко, О.О. Гончар, С.Б. Французова [та ін.] // Таврический медико-биологический вестник. – 2012. – Т. 15, № 3, ч.1 (59). – С. 246-249.
12. Веремеенко К.Н. Протеолиз в норме и

при патологии / К.Н.Веремеенко, О.П. Голубородько, А.И.Кизим // К.: Здоров'я, 1988. – 200с.

References

1. Kostromina V.P., Rechkina V.P., Kuts V.V .et. al (2013). Algorithm timely diagnosis of asthma in children. Actual questions of pharmaceutical and medical science and practice.- №3 (13), P. 38- 42. (in Ukrainian)
2. Alifanova S. V. (2013). Risk Factors Of Bronchial Asthma in Children. Actual questions of pharmaceutical and medical science and practice, 3 (13), 4–7. (in Ukrainian)
3. Regeda, M. S., Furdychko, L. O., Kolishetska, M. A. (2012). Bronchial Asthma Lviv, 147. (in Ukrainian)
4. Global strategy for asthma management and prevention. National institutes of health. National Heart, Lung and Blood Institute. Revised 2014. Available at: <http://www.ginasthma.org>
5. Marusyk U.I., Makarova O.V. (2013). Indicators blood cell immunity in patients with asthma of children, including asthma phenotypes. Actual questions of pharmaceutical and medical science and practice.- №3 (13), 2013.- P. 47-49. (in Ukrainian)
6. Soyer O.U., Akdis M., Ring J. (2013). Mechanisms of peripheral tolerance to allergens. Allergy, № 68. – P.161-170.
7. Wasserman, S., Nair, P., Snider, D., Conway, M., Jayaram, L., McCleary, L. M. et. al. (2012). Local and systemic immunological parameters associated with remission of asthma symptoms in children. Allergy, Asthma & Clinical Immunology, 8 (1), 16.
8. Shcherbak V.V., Kubyshkyn A.V. (2011). Effect of application inhibitorov proteynazy antioxidant inflammation in formation at experimental pneumonia. General pathology and pathological physiology, V.6. - № 3. - P.57-63. (in Ukrainian)
9. Aganche I., Akdis C., Jutel M. et al. (2012) Untangling asthma phenotypes and endotypes. Allergy. – V. 67, Is. 7. – P. 835–846.
10. Hesselmar, B., Enelund, A-C., Eriksson, B., Padyukov, L., Hanson, L. A., Aberg, N. (2012). The Heterogeneity of Asthma Phenotypes in Children and Young Adults. Journal of Allergy, 2012, 1–6.
11. Opanasenko, G. V., Potter, O. O.,

Phrancuzova, S. B., Mankovska, I. N. (2012). Influence of the thiotriazolone on the state of pro- and antioxidant balance in soft fabrics of paradont at the terms of chronic stress. Tavricheskiy medico-biological vistnyk, 15 (3), 246–249. (in Ukrainian)

12. Veremeenko K.N., Goloborodko A.P., Kyzym A.Y. (1988). Proteolysis in norm and at pathology. К .: Health, 200p. (in Ukrainian)

Резюме

РОЛЬ ПРОЦЕССОВ ПРОТЕОЛИЗА И АНТИПРОТЕАЗНОГО ПОТЕНЦИАЛА В БРОНХАХ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ И ИХ КОРРЕКЦИЯ ПРЕПАРАТОМ ТИОТРИАЗОЛИНОМ.

Колишецкая М.А.

В эксперименте на морских свинках показано, что бронхиальная астма (БА) сопровождается существенным дисбалансом протеиназо-ингибиторной системы (рост протеолитической активности на фоне дефицита ингибиторов протеолиза). Интенсивность процессов протеолиза, а именно уровень азоальбумина, азоказеина и азоколагена, растут прямо пропорционально степени поражения и достигают максимума в поздний период эксперимента (на 33-е сутки БА). Параллельно фиксируем снижение активности ингибиторов протеолиза - б1-ингибитора протеиназ и б2-макроглобулина.

Анализ результатов влияния предложенной коррекции на протеолитическую активность в бронхах указывает на то, что тиотриазолин проявляет корректирующее действие и способствует восстановлению баланса протеиназо-ингибиторной системы при экспериментальной бронхиальной астме.

Ключевые слова: бронхиальная астма, азоальбумин, азоказеин, азоколаген, б1-ингибитор протеаз, б2-макроглобулин, тиотриазолин.

Summary

THE ROLE OF PROTEOLYSIS PROCESSES AND ANTYPROTEASE POTENTIAL IN THE BRONCHIAL TUBES IN EXPERIMENTAL ASTHMA AND THEIR CORRECTION OF THIOTRIAZOLIN

Kolishetska M.A.

In experiments on guinea pigs showed that asthma is accompanied by a significant imbalance proteinase-inhibitory system (an increase of proteolytic activity against the backdrop of proteolysis inhibitor deficiency). Intensity of proteolysis, namely azoalbuminu, azokazeyinu and azokolahenu levels, grow in direct proportion to the degree of lesion and reach a maximum in the later period of the experiment (33 rd

day asthma). Parallel to fix lower activity inhibitor of proteolysis - β 1- proteinase inhibitor and β 2-macroglobulin.

Analysis of the impact of the proposed correction to proteolytic activity in the bronchi indicates that thiotriazolyn showing corrective action and helps to restore the balance of proteinase-inhibitory system in experimental asthma.

Key words: *asthma, azoalbumin, azokasein, azokolagen, β 1-protease inhibitor, β 2-macroglobulin, thiotriazolyn.*

Впервые поступила в редакцию 20.04.2017 г. Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования

УДК 616.5–001.17–001.22–092.9:546.172.6:57.088.6

ВЛИЯНИЕ ЛОКАЛЬНОГО УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА МЕТАБОЛИТЫ ОКСИДА АЗОТА И МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ КОЖИ МОРСКИХ СВИНОК

Миронченко С.И., Звягинцева Т.В., Наумова О.В.

*Национальный фармацевтический университет
Харьковский национальный медицинский университет
s.mironchenko@ukr.net*

Целью работы явилось установление влияния ультрафиолетового облучения (УФО) на систему оксида азота (NO) и морфофункциональное состояние кожи морских свинок. Исследования проведены на 24 морских свинках-альбиносах массой 400-500 г, подвергшихся локальному УФО. Группой контроля служили интактные морские свинки ($n = 6$). Через 2 часа, 4 часа, на 3-и и 8-е сутки после облучения в коже определяли содержание метаболитов NO (суммарных метаболитов, нитрит-аниона, нитратов) и проводили гистологические исследования. Установлено, что развитие УФ эритемы (1 МЭД) сопровождается накоплением всех метаболитов NO, воспалительно-дегенеративными изменениями, появлением sunburn cells в коже, достигавшими наибольшей степени выраженности на 3-и сутки после облучения. В постэритемный период (8-е сутки) в коже продолжается патологический процесс, подтверждающийся микроскопически (сохраняются пролиферативно-гиперпластические и дегенеративные изменения) и сопровождающийся повышением всех метаболитов NO.

Ключевые слова: *оксид азота, морфологические изменения, кожа, ультрафиолетовое облучение*

Введение

Избыточное ультрафиолетовое (УФ) излучение вызывает формирование мощной ответной реакции с вовлечени-

ем всех компонентов кожи [1, 2]. Ультрафиолетовое облучение (УФО) индуцирует продукцию оксида азота (NO) – основного медиатора межклеточных взаи-