

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

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Галій-Луцька Вікторія Віталіївна

УДК: 616.12-008.331.1-092:612.015.11:796.015.6]-073.97

**РОЛЬ ПОРУШЕНЬ МЕТАБОЛІЧНИХ ТА ІМУННИХ ПРОЦЕСІВ У
ПАТОГЕНЕЗІ ФОРМУВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО
АЛЕРГІЧНОГО АЛЬВЕОЛІТУ І ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ ТА ЇХ
ФАРМАКОЛОГІЧНА КОРЕКЦІЯ**

222 – медицина

22 - охорона здоров'я

Подається на здобуття ступеня доктора філософії

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

_____ В.В. Галій-Луцька

(підпис, ініціали та прізвище здобувача)

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

Львів-2024

АНОТАЦІЯ

Галій-Луцька В.В. «Роль порушень метаболічних та імунних процесів у патогенезі формування експериментального алергічного альвеоліту і іммобілізаційного стресу та їх фармакологічна корекція». — Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 – Медицина (22 - Охорона здоров'я). – Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького МОЗ України, Львів, 2024.

Дисертаційна робота присвячена визначенню зрушень імунної, прооксидантно-антиоксидантної і системи оксиду азоту при експериментальному алергічному альвеоліті (ЕАА) в умовах іммобілізаційного стресу (ІС), встановленню ефективності корекції корвітином і тіотриазоліном.

Було використано 118 самців морських свинок, що знаходились у віварії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького у типовій обстановці, масою фіксованою в межах 180-210 г.,

Відповідно до мети дослідження, використано п'ять груп піддослідних тварин: перша (контроль) – інтактні тварини (10); друга група – морські свинки з ЕАА, складалася з трьох підгруп, декапітованих на 1-у, 14-у і 24-у доби (30); третя група – тварини з ІС, що налічувала три підгрупи, декапітовані у вищезазначені терміни (30); четверта група – морські свинки з ЕАА та ІС, що нараховувала три підгрупи, кожна з яких було декапітовано у вказані раніше доби (30); п'ята група — піддослідні тварини з ЕАА та ІС (18), декапітовані на 24-у добу після лікування, що включала дві підгрупи: в одній щодня впродовж 11 днів (з 14-ї по 24-у доби) внутрішньом'язово застосовували у дозі 50 мг/кг тіотриазолін (виробництва ПАТ «Галичфарм») і внутрішньоочеревинно корвітин у дозі 40 мг/кг (виробництво «Борщагівський хіміко - фармацевтичний завод»), у другій — лише корвітин у відповідній дозі і термінах.

Обрано закріплені доби виведення з експерименту згідно стадіям стресу: 1 доба – стадія тривоги (до 4 діб); 14 доба – резистентності (5-14 доби); 24 доба

– стадія виснаження (з 15 доби розвитку стресу). Проведено моделювання ЕАА шляхом ін'єкції повного ад'юванта Фрейнда і БЦЖ тваринам на 1-у, 14-у і 24-у доби. Для виведення з експерименту після підготовчого введення налбуфіну гідрохлориду (ТОВ «Юрія-Фарм», Україна) в дозуванні 182 мг/кг внутрішньоочеревинно у 1, 14, 24-у доби постановки моделі ЕАА і ІС, було виконано декапітацію, з подальшим забором крові і легень для здійснення експериментів, описаних нижче.

Гіперсенситивний пневмоніт (експериментальний алергічний альвеоліт (ЕАА)) відтворено методом О.О. Орехова, Ю.А. Кирилова, а стрес, зумовлений знерухомленням (імобілізаційний стрес (ІС)), — методом П.Д. Горизонтова.

Експериментальний гіперчутливий пневмоніт (1-а, 14-а, 24-а доби) відносно відповідних параметрів крові інтактних тварин супроводжується неухильним зниженням Т-лімфоцитів відповідно на 33,4%, 36,2%, 39,6% ($P < 0,05$), збільшенням В-лімфоцитів на 27,8%, 31,1%, 44,3% ($P < 0,05$), циркулюючих імунних комплексів — на 41,1%, 46,6%, 50,7% ($P < 0,05$), що є проявом індукування гуморального імунітету і послаблення клітинного.

Введення тіотриазоліну і корвітину в 24-у добу експерименту порівняно зі значеннями групи тварин з експериментальною постановкою гіперсенситивного пневмоніту і стресу, викликаного знерухомленням, де не було застосовано медичних препаратів, стало причиною підвищення Т-лімфоцитів на 40,0% ($P < 0,05$), зменшення В-лімфоцитів на 24,3% ($P < 0,05$) і ЦК на 26,0% ($P < 0,05$), що вказує на їх імуномодулюючий характер дії.

Розвиток експериментального гіперсенситивного пневмоніту і стресу, обумовленого імобілізацією (1-а, 14-а, 24-а доби), порівняно з контрольною групою, призводив до значного підвищення фактора некрозу пухлин альфа (TNF- α) крові – відповідно на 57,8%, 63,1%, 78,9% ($P < 0,05$), інтерлейкіну-6 (IL-6) — на 37,9%, 43,1%, 58,6% ($P < 0,05$), зниження інтерлейкіну-10 (IL-10) на 33,3%, 36,6%, 43,3% ($P < 0,05$), що засвідчує про першорядне значення незбалансованості цитокінового профілю в патогенезі ЕАА і ІС.

Введення тіотриазоліну спільно з корвітином, відносно групи тварин з експериментальним моделюванням гіперчутливого пневмоніту і ІС на 24-у добу експерименту без введення вищевказаних медичних засобів, спричиняло спадання ФНП- α на 35,2%, ІЛ-6 — на 33,7%, підвищення ІЛ-10 на 47,0% ($P < 0,05$) крові, що вказувало на їх цитокінокоригуючий вплив.

Прогресування (1-а, 14-а, 24-а доби) змодельованого гіперсенситивного пневмоніту зі стресом, викликаним іммобілізацією, відносно групи контролю в легенях спричиняє зростанням вмісту стабільних метаболітів NO (нітрит-нітрат іонів) відповідно на 75,0%, 125,0%, 140,0% ($P < 0,05$), сумарної активності NOS (NO-синтаз) на 72,2%, 111,1%, 122,2% ($P < 0,05$) та зниження L-аргініну на 31,6%, 50,0% 55,0% ($P < 0,05$).

Введення тіотриазоліну і корвітину на 24-у добу експериментальної постановки гіперчутливого пневмоніту і ІС, порівняно з групою тварин без впливу лікарських засобів, вело до зменшення в легенях стабільних метаболітів оксиду азоту на 37,5% ($P < 0,05$), сумарної активності NOS – на 35,0% ($P < 0,05$), підвищення L-аргініну на 55,5% ($P < 0,05$), що підтверджує їх корекційну здатність щодо зазначених метаболічних розладів.

Експериментальний гіперсенситивний пневмоніт з ІС (1-а, 14-а, 24-а доби) викликає в легенях суттєві відхилення характеру вільнорадикальних реакцій проти відповідних параметрів інтактних тварин: зростання дієнових кон'югатів (ДК) відповідно на 64,8%, 80,0%, 90,4% ($P < 0,05$), малонового діальдегіду (МДА) на 68,7%, 74,8%, 88,6% ($P < 0,05$), зниження супероксиддисмутази (СОД) — на 27,8%, 34,7%, 44,1% ($P < 0,05$), каталази (КТ) на 48,5%, 52,1%, 55,1% ($P < 0,05$), церулоплазміну (ЦП) на 31,5%, 40,8%, 44,3% ($P < 0,05$) як властива ознака оксидантного стресу.

Порівняно зі значеннями групи тварин, що не підлягали дії досліджуваних лікарських середників, на 24-у добу експерименту в легенях було помічено зниження ДК і МДА на 29,8% і 16,1% ($P < 0,05$), зростання ЦП,

КТ, СОД, на 50,3%, 80,4%, 45,0% ($P < 0,05$) відповідно, що демонструє антиоксидантний ефект поєднання даних медичних препаратів.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше виявлено притаманні для прогресування експериментального гіперчутливого пневмоніту і стресу, спричиненого іммобілізацією, відхилення у крові і легенях цитокінового статусу, імунних процесів, інтенсивності вільнорадикального окиснення ліпідів, функціонування систем антиоксидантного захисту та оксиду азоту, встановлено роль вказаних змін в патогенезі зазначених патологій.

Вперше продемонстровано властиві ознаки імунних відхилень — депресія клітинного і індукування гуморального імунітету, домінуючого на 24-у добу моделювання гіперсенситивного пневмоніту з іммобілізаційним стресом.

Вперше розкрито тенденцію, переважаючу на 14-у і 24-у доби експериментального гіперчутливого пневмоніту і стресу, викликаним іммобілізацією, до зростання прозапальних цитокінів, зниження ІЛ-10.

Уперше охарактеризовано при моделюванні гіперчутливого пневмоніту зі стресом, зумовленим знерухомленням, інгібування функціонування антиоксидантних захисних механізмів з інтенсифікацією прооксидантних, більш помітне на 14-у і 24-у доби.

Уперше розкрито, що в динаміці формування алергічного альвеоліту і іммобілізаційного стресу відбувається зростання вмісту стабільних метаболітів оксиду азоту, сумарної активності NO синтаз в легенях, переважаючи на 24-у добу експерименту, а також зниження концентрації L-аргініну.

Уперше доведено антиоксидантний, імуномодулюючий і цитокінокоригуючий вплив тіотриазоліну і корвітину при експериментальному моделюванні алергічного альвеоліту в умовах іммобілізаційного стресу.

Практичне значення отриманих результатів. Результати виконаних досліджень дають можливість більш докладно сформулювати розуміння патогенезу експериментального алергічного альвеоліту і іммобілізаційного стресу, і можуть використовуватись в дослідницькій діяльності та практичній

медицині. Доведена антиоксидантна та імунотропна дія тіотриазоліну і корвітину вказує на перспективність і доцільність їх подальшого вивчення в експерименті та клініці (пульмонології, алергології, неврології, психіатрії) з метою корекції порушень метаболічних та імунних процесів при експериментальному алергічному альвеоліті і іммобілізаційному стресі та розробки методичних вказівок.

Результати досліджень було застосовано в ході навчання на кафедрі патологічної фізіології Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського, Івано-Франківського національного медичного університету, ВДНЗ України “Буковинський державний медичний університет”, кафедрах патофізіології, фізіології та анатомії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, що засвідчено актами впровадження.

Ключові слова: іммобілізаційний стрес, експериментальний алергічний альвеоліт, гомогенат легеневої тканини, кров, лімфоцити, цитокіни, система оксиду азоту, перекисне окиснення ліпідів, антиоксидантна система, тіотриазолін, корвітин.

Список публікацій здобувача по темі дисертації.

Наукові праці, в яких опубліковані головні наукові дані дисертації:

1. 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 (13). С. 41-48. *(Особистий внесок — експерименти проведено самостійно, виконано статистичну обробку одержаних результатів, написано текст та сформульовано висновки).*

2. Регеда М.С., Галій-Луцька В.В. Особливості змін ІЛ-10 крові в умовах експериментального поєднання алергічного альвеоліту та іммобілізаційного стресу і його фармакологічної корекції. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2023. №1-2 (71-72). С. 164-171. *(Особистий внесок — експерименти проведено самостійно, виконано статистичну обробку одержаних результатів, написано текст та сформульовано висновки).*

3. Регеда М.С., Галій-Луцька В.В. Значення коригуючого впливу корвітину та тіотриазоліну на рівні деяких прозапальних цитокінів у крові при експериментальному поєднанні алергічного альвеоліту та іммобілізаційного стресу. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2023. №3 (73). С. 132-145. *(Особистий внесок — експерименти проведено самостійно, виконано статистичну обробку одержаних результатів, написано текст та сформульовано висновки).*

4. 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 (74). С. 113-124.

(Особистий внесок — експерименти проведено самостійно, виконано статистичну обробку одержаних результатів, написано текст та сформульовано висновки).

5. Регеда М.С., Галій-Луцька В.В. Визначення ефективності корвітину та тіотриазоліну щодо корекції відхилень параметрів прооксидантно-антиоксидантної системи при експериментальному алергічному альвеоліті в умовах іммобілізаційного стресу. *Вісник морської медицини*. 2023. №4 (101). С. 52-59. *(Особистий внесок — експерименти проведено самостійно, виконано статистичну обробку одержаних результатів, написано текст та сформульовано висновки).*

6. Galii-Lutska V.V. The effect of the combination of thiotriazoline and corvitin on the values of some parameters of the cellular and humoral immune system

during the experimental reproduction of allergic alveolitis under immobilization stress. *Journal of Education, Health and Sport*. 2022; №12(10): P. 373-380. *(Особистий внесок — експерименти проведено самостійно, здійснено статистичну обробку результатів дослідження, написано текст та сформульовано висновки).*

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

7. Регеда М.С., Галій-Луцька В.В. Роль інтерлейкіну-6 в крові в патогенезі розвитку коморбідної патології – іммобілізаційного стресу та експериментального алергічного альвеоліту. *Матеріали Пленуму Українського наукового товариства патофізіологів «Особливості науково-педагогічного процесу в період пандемії COVID-19» 15-17 вересня 2022*. Тернопіль, 2022. С. 71-72. *(Особистий внесок - (Особистий внесок — експерименти проведено самостійно, виконано статистичну обробку одержаних результатів, написано текст та сформульовано висновки).).*

8. 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.91-93. *(Особистий внесок — експерименти проведено самостійно, виконано статистичну обробку одержаних результатів, написано текст та сформульовано висновки).*

SUMMARY

Galii-Lutska V.V. "The role of disorders of metabolic and immune processes in the pathogenesis of the formation of experimental allergic alveolitis and immobilization stress and their pharmacological correction." - Qualifying scientific work on manuscript rights.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in specialty 222 - Medicine (22 - Health Care). - Lviv National Medical University named after Danylo Halytskyi, Ministry of Health of Ukraine, Lviv, 2024.

The dissertation is devoted to determining the nature of changes in some indicators of the immune, pro-oxidant-antioxidant and nitric oxide systems during experimental reproduction of allergic alveolitis and during simulation of immobilization stress both in isolation and in the conditions of their combination, as well as identifying the effectiveness of the combination of corvitin and thiotriazoline in terms of possible correction of values studied parameters.

118 male guinea pigs weighing 180-210 g were included in the study. The experimental animals were kept under standard conditions in the vivarium of the Danylo Halytsky Lviv National Medical University.

According to the research objective of the dissertation work, guinea pigs were divided into five groups: the first group – (control) intact animals (10); the second group – guinea pigs with EAA, which consisted of three subgroups: respectively on the 1st, 14th and 24th days of the experiment before treatment (30); the third group - animals with IS, which consisted of three subgroups: respectively on the 1st, 14th and 24th days of the experiment before treatment (30); the fourth group - guinea pigs with EAA and IS, which consisted of three subgroups on the 1st, 14th and 24th days of the experiment before treatment (30); the fifth group - guinea pigs with EAA and IS (18) on the 24th day of the experiment after treatment and contained two subgroups. In the first, thiotriazoline was used (manufactured by PJSC "Halychpharm") was used, which was administered intramuscularly at a dose of 50 mg/kg daily and in combination with corvitin (produced by "Borshchagivsky Chemiko - Pharmaceutical

Plant") at a dose of 40 mg/kg intraperitoneally for 11 days (with 14th to 24th days) and in the second, only corvitin was used in a similar dose and terms.

Fixed days were chosen for conducting the experiment and decapitation, which corresponded to the stages of stress development: 1 day – the stage of anxiety, which lasts up to 4 days; 14 days – resistance that develops from 5 to 14 days; The 24th day is the exhaustion stage that occurs from the 15th day of stress formation and the formation of EAA by immunization (administration of complete Freund's adjuvant and BCG) of animals on the 1st, 14th and 24th days. To remove the animals from the experiment, the decapitation method was used after the previous intraperitoneal administration of nalbuphine hydrochloride (Yuria-Pharm LLC, Ukraine) in a dosage of 182 mg/kg. Intact guinea pigs and animals on the 1st, 14th, and 24th days of EAA and IS development were decapitated under nalbuphine anesthesia, and blood and lungs were collected for biochemical, immunological, and immunoenzymatic studies.

Allergic alveolitis was modeled according to the method of O.O. Orekhova, Yu.A. Kyrylov, and the immobilization stress was reproduced according to the method of P.D. Gorizontova, O.I. Belousova, M.I. Fedotova.

Experimental allergic alveolitis (EAA) combined with immobilization stress (IS) (1st, 14th, 24th days) is accompanied by a significant sequential decrease in the content of T-lymphocytes by 33.4%, 36.2%, 39.6%, respectively % ($P < 0.05$) and an increase in the level of B-lymphocytes by 27.8%, 31.1%, 44.3% ($P < 0.05$) and circulating immune complexes in the blood by 41.1%, 46, 6%, 50.7% ($P < 0.05$) against the control group of animals, which indicated the stimulation of humoral against the suppression of cellular immunity and their leading place in the pathogenesis of the development of alveolitis and stress.

The combined use of thiotriazoline and corvitin led to an increase in the level of T-lymphocytes by 40.0% ($P < 0.05$) and a decrease in the level of B-lymphocytes by 24.3% ($P < 0.05$) and CIC by 26.0% ($P < 0.05$) relative to the group of animals on the 24th day of the experiment without the influence of these drugs in allergic alveolitis

and stress, which indicated their immunomodulatory effect.

The development of experimental allergic alveolitis and immobilization stress (1st, 14th, 24th days) causes a significant increase in the content of tumor necrosis factor (TNF- α) - alpha by 57.8%, 63.1%, 78.9%, respectively % (P<0.05), interleukin-6 (IL-6) in the blood by 37.9%, 43.1%, 58.6% (P<0.05) and a decrease in the level of interleukin-10 (IL-10) by 33.3%, 36.6%, 43.3% (P<0.05) against the first group of animals, which indicated a marked imbalance of the cytokine profile and their important role in the pathogenesis of EAA and IS.

The use of thiotriazoline and corvitin caused a decrease in the level of TNF- α by 35.2%, IL-6 by 33.7% and an increase in the content of IL-10 by 47.0% (P<0.05) in the blood compared to the group of animals before correction at EAA and IS on the 24th day of the experiment, which indicated their cytokine-correcting effect.

The dynamics (1st, 14th, 24th days) of the development of allergic alveolitis in combination with immobilization stress causes noticeable disturbances in the indicators of the nitric oxide (NO) system in the lungs, which are manifested by a gradual increase in the content of stable metabolites of NO by 75.0%, respectively, 125.0%, 140.0% (P<0.05), the total activity of NOS (synthase) by 72.2%, 111.1%, 122.2% (P<0.05) and a decrease in the level of L-arginine by 31.6%, 50.0%, 55.0% (P<0.05) compared to the control.

The combined use of thiotriazoline and corvitin led to a decrease in the content of stable metabolites of nitric oxide by 37.5%, the total activity of NOS by 35.0% (P<0.05) in the lungs, and an increase in the level of L-arginine by 55.5% (P<0.05) against a group of animals on the 24th day of development of EAA and IS without the influence of these drugs, which indicated their positive corrective effect on disturbed metabolic processes.

Experimental allergic alveolitis associated with immobilization stress (1st, 14th, 24th days) causes significant changes in lipoperoxidation processes - an increase in the content of diene conjugates (DC) in the lungs by 64.8%, 80.0%, respectively 90.4% (P<0.05), malondialdehyde (MDA) by 68.7%, 74.8%, 88.6%

($P < 0.05$) and a significant decrease in the content of ceruloplasmin (CP) by 31, 5%, 40.8%, 44.3% ($P < 0.05$), superoxide dismutase (SOD) activity by 27.8%, 34.7%, 44.1% ($P < 0.05$), catalase (CT) by 48.5%, 52.1%, 55.1% ($P < 0.05$) relative to the intact group of animals, which indicated the development of oxidant stress, which increased the course of this immune complex pathology and stress.

The use of thiothiazoline together with corvutin caused a decrease in the content of DC and MDA by 29.8% and 16.1%, respectively ($P < 0.05$) and an increase in the activity of SOD, CT and the content of CP in the lungs by 45.0%, 80.4%, 50.3% ($P < 0.05$) against a group of animals with allergic alveolitis and stress on the 24th day of the experiment, which were not exposed to these medicinal agents, which indicated their antioxidant effect on disturbed markers of the prooxidant-antioxidant system.

Scientific novelty of the obtained results. For the first time, the pathogenetic features of disorders of immune processes, cytokine status, processes of lipoperoxidation and antioxidant protection and the nitric oxide system in the blood and lungs were established, and their participation in the mechanisms of formation of experimental allergic alveolitis and immobilization stress was proven.

It was shown for the first time that experimental allergic alveolitis combined with immobilization stress leads to a violation of immune homeostasis, which is manifested by the suppression of cellular immunity against the background of stimulation of humoral immunity at all stages of their development with an advantage on the 24th day of the experiment.

For the first time, an imbalance of cytokines was revealed - an increase in pro-inflammatory cytokines in conditions of a decrease in anti-inflammatory cytokines during all periods of the formation of experimental allergic alveolitis and immobilization stress with dominance on the 14th and 24th days of the experiment.

For the first time, it was determined that combined experimental allergic alveolitis with immobilization stress is accompanied by stimulation of pro-oxidant processes against the background of significant inhibition of the antioxidant system

during all stages of their development with the greatest degree of expression on the 14th and 24th days of the experiment.

For the first time, it was shown that during all periods of the formation of combined experimental allergic alveolitis and immobilization stress, there is a noticeable increase in the content of secondary metabolites of nitric oxide, the total activity of NO synthases in conditions of a decrease in the concentration of L-arginine in the lungs, with an advantage on the 24th day of the experiment.

For the first time, the antioxidant, immunomodulatory, and cytokine-correcting effect of thiotriazoline together with corvutin was proven under the conditions of the development of experimental allergic alveolitis and immobilization stress.

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 immobilization stress and can be used in further scientific research and pedagogical work. The proven antioxidant and immunocorrective effect of thiotriazoline and corvutin indicates the perspective and feasibility of their further research and study in the experiment and in the clinic (pulmonology, allergology, neurology, psychiatry) with the aim of correcting disorders of metabolic and immune processes under the conditions of the development of experimental allergic alveolitis and immobilization stress and development of methodological guidelines.

The results of the study are implemented in the educational process at the Department of Pathological Physiology of the Ivano-Frankivsk National Medical University, Ternopil National Medical University named after I. Ya. pathology of the Lviv Medical University, which is confirmed by acts of implementation.

Key words: experimental allergic alveolitis, immobilization stress, lipid peroxidation, antioxidant system, nitric oxide system, lymphocytes, cytokines, corvutin, thiotriazoline, lung tissue homogenate, blood.

ЗМІСТ

Перелік умовних позначень	17
Вступ.....	18
Розділ 1 Сучасні уявлення про епідеміологію, етіологію і патогенез екзогенного алергічного альвеоліту та стресу. (Огляд літератури)	23
1.1 Епідеміологія, етіологія і патогенез екзогенного алергічного альвеоліту.....	23
1.2 Актуальність і патогенез стресу.....	33
Розділ 2 Матеріали та методи досліджень.....	48
2.1 Опис експериментальних груп тварин	48
2.2 Методика моделювання експериментального алергічного альвеоліту	50
2.3 Методика постановки іммобілізаційного стресу.....	50
2.4 Одержання гомогенатів легень у морських свинок	50
2.5 Методи дослідження.....	51
2.5.1 Біохімічні методи дослідження.....	51
2.5.1.1 Визначення дієнових кон'югатів.....	51
2.5.1.2 Визначення малонового діальдегіду.....	52
2.5.1.3 Встановлення активності супероксиддисмутази	52
2.5.1.4 Встановлення активності каталази.....	53
2.5.1.5 Визначення вмісту церулоплазміну.....	53
2.5.1.6 Визначення вільного аргініну.....	53
2.5.1.7. Визначення сумарних продуктів оксиду азоту (нітрит і нітрат-йонів) у біологічних рідинах.....	54
2.5.1.8 Визначення сумарної активності синтази оксиду азоту...	55
2.5.2 Імунологічні та імуноферментні методи дослідження.....	56
2.5.2.1 Визначення вмісту Т-лімфоцитів крові.....	56
2.5.2.2 Визначення вмісту В-лімфоцитів.....	57
2.5.2.3 Визначення імунних комплексів крові.....	57

2.5.2.4	Вимірювання рівня цитокінів.....	58
2.6	Статистичне опрацювання отриманих результатів.....	59
2.7.	Характеристика досліджуваних фармакологічних засобів.....	59
2.7.1.	Тіотриазолін і його характеристика.....	59
2.7.2.	Корвітин і його характеристика.....	62
Розділ 3 Особливості змін імунної системи за умов розвитку алергічного альвеоліту і іммобілізаційного стресу та корекція його порушень корвітином і тіотриазоліном.....		67
3.1	Роль імунної системи у формуванні експериментального алергічного альвеоліту.....	68
3.2	Зрушення імунного статусу за умов розвитку іммобілізаційного стресу.....	71
3.3	Зміни з боку імунної системи при поєднанні ЕАА і ІС.....	73
3.4	Коригуючий вплив корвітину та тіотриазоліну на порушені маркери імунної системи при ЕАА і ІС.....	76
Розділ 4 Характер цитокінового профілю за умов формування експериментального алергічного альвеоліту і іммобілізаційного стресу та корекція його порушень корвітином і тіотриазоліном.....		81
4.1	Кількісні зміни про- і протизапальних цитокінів крові при експериментальному алергічному альвеоліті.....	81
4.2	Кількісні зміни про- і протизапальних цитокінів крові в різні періоди розвитку іммобілізаційного стресу.....	85
4.3	Зрушення цитокінового профілю крові в динаміці розвитку ЕАА і ІС.....	88
4.4	Вплив тіотриазоліну і корвітину на рівень цитокінів сироватки крові морських свинок при ЕАА і ІС.....	91
Розділ 5 Стан системи оксиду азоту легень морських свинок у різні періоди формування експериментального алергічного альвеоліту і іммобілізаційного стресу та корекція їх порушень тіотриазоліном та		

корвітином	95
5.1 Характеристика відхилень параметрів системи оксиду азоту в легенях при експериментальному алергічному альвеоліті.....	96
5.2 Характеристика відхилень показників оксиду азоту у легенях в різні періоди розвитку іммобілізаційного стресу.....	99
5.3 Особливості змін маркерів системи оксиду азоту у легенях в динаміці розвитку ЕАА і ІС.....	102
5.4 Вплив тіотриазоліну і корвітину на зміни показників системи оксиду азоту в легенях при ЕАА і ІС.....	105
Розділ 6 Специфіка зрушень прооксидантно-антиоксидантних систем у легенях в динаміці розвитку експериментального алергічного альвеоліту та іммобілізаційного стресу та корекція їх корвітином і тіотриазоліном.....	109
6.1 Типові зміни прооксидантної і антиоксидантних систем в легенях у динаміці розвитку експериментального алергічного альвеоліту.....	110
6.2 Зрушення перекисного окиснення ліпідів і антиоксидантних систем в легенях при іммобілізаційному стресі.....	115
6.3 Рівні маркерів ПОЛ і АОС у легенях в процесі формування ЕАА і ІС.....	119
6.4 Вплив тіотриазоліну і корвітину на значення параметрів ПОЛ і АОС в легенях при ЕАА і ІС.....	123
Розділ 7 Аналіз та узагальнення результатів дослідження.....	128
Висновки.....	153
Рекомендації щодо наукового і практичного застосування отриманих результатів.....	155
Список використаних джерел.....	156
Додатки.....	192

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АА –алергічний альвеоліт
АОЗ – антиоксидантний захист
АОС – антиоксидантна система
БАР – біологічно активні речовини
ВРО – вільнорадикальне окиснення
В/О – внутрішньом'язово
В/М –внутрішньоочеревинно
ДК – дієнові кон'югати
ЕАА – експериментальний алергічний альвеоліт
ЕМХ – експериментальна модель хвороби
ІЛ - інтерлейкін
ІС– іммобілізаційний стрес
КТ - каталаза
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
ЦП – церулоплазмін

ВСТУП

Актуальність теми. Алергічний альвеоліт або гіперчутливий (гіперсенситивний) пневмоніт — захворювання альвеол, інтерстицію легень і термінальних бронхіол імунозапального характеру, спричинене реакціями гіперчутливості III і IV типів за Джеллом і Кумбсом [31, 36, 55, 235, 250]. Під час епідеміологічних досліджень 2004-2013 років у США було визначено поширеність даної патології в межах 2,67-2,71 на 100 тис. осіб, що зростала з віком від 0,95 на 100 тис. дітей молодших 9 років до 11,2 на 100 тис. у віковій категорії понад 65 років; кумулятивні показники захворюваності – 1,28-1,94 на 100 тис. осіб, тоді як у Німеччині за 2000–2013 роки реєструвалось приблизно 14 нових випадків гіперчутливого пневмоніту щороку, у Франції за 2005-2012 роки – 29, у Фінляндії – 30, а у Великобританії за 1996-2015 роки встановлено 202 випадки даного захворювання, щорічна захворюваність становила приблизно 1,4 випадки на 1 млн. працюючих [53, 55, 140, 151, 219, 235, 239].

Поширеність хвороби серед дитячого населення пострадянського простору сягає 3,6, у Данії — 4, а у Великобританії — 1 випадок на 1 мільйон дітей, частка в структурі інтерстиційних захворювань легень — 4-15% [36, 38, 53, 140, 250, 251].

Психологічні розлади турбують приблизно 31-41% населення світу [67]. Стрес обтяжує перебіг і підвищує смертність понад 75% захворювань [70]. Під час COVID-19 поширеність стресу становила 53%, коливаючись в Китаї в межах 8,1-29,29%, в Індії — 11,6% в Італії — 14,6% всіх респондентів [43, 57].

Етіологічні фактори гіперсенситивного пневмоніту та стресу знайомі, однак повністю не встановлено патогенез їх розвитку, особливо за умов поєднаного експериментального алергічного альвеоліту (ЕАА) і стресу, викликаного знерухомленням, — іммобілізаційного стресу (ІС).

Не вивчено порушення імунної системи, цитокінового статусу, оксидантно-антиоксидантного балансу, системи оксиду азоту (NO) легень і крові в динаміці ЕАА і ІС без та з застосуванням тіотриазоліну і корвітину.

Можна стверджувати, що проблема експериментального поєднання алергічного альвеоліту як захворювання імуно-запального генезу з іммобілізаційним стресом є актуальною, обумовлюючи необхідність виконання експериментальних та клінічних досліджень за даною тематикою надалі.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертація являється частиною 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). Дисертант є співвиконавцем теми.

Мета дослідження: висвітлити характер змін імунних і метаболічних процесів у патогенезі експериментально змодельованого гіперсенситивного пневмоніту і стресу обумовленого знерухомленням, оцінити ефект при поєднанні вказаних патологій тіотриазоліну і корвітину.

Завдання дослідження:

1. Визначити характер порушень гуморального і клітинного імунітету при експериментальній постановці гіперчутливого пневмоніту і зумовленого знерухомленням стресу.

2. Встановити зміни цитокінового профілю під час експериментального моделювання гіперсенситивного пневмоніту і викликаного іммобілізацією стресу.

3. Охарактеризувати відхилення у легенях показників функціонування антиоксидантно-прооксидантних механізмів при відтворенні гіперсенситивного пневмоніту і іммобілізаційного стресу.

4. З'ясувати зрушення системи оксиду азоту легень за експериментального відтворення гіперчутливого пневмоніту і стресу, викликаного знерухомленням.

5. Патогенетично обґрунтувати застосування тіотриазоліну і корвітину за експериментального гіперчутливого пневмоніту і іммобілізаційного стресу.

Об'єкт дослідження: експериментальний алергічний альвеоліт і іммобілізаційний стрес.

Предмет дослідження: показники клітинного і гуморального імунітету, цитокінового профілю, злагодженості перекисного окиснення ліпідів і антиоксидантного гомеостазу, NO-синтазних механізмів крові легень тварин з експериментально відтвореним гіперсенситивним пневмонітом і стресом, викликаним знерухомленням без та з використанням тіотриазоліну і корвітину.

Методи дослідження:

- імунологічні (рівень Т і В-лімфоцитів, циркулюючих імунних комплексів крові);
- імуноферментні (визначення про- і протизапальних цитокінів крові).
- біохімічні (вимірювання вмісту церулоплазміну, супероксиддисмутази, каталази, малонового діальдегіду, дієнових кон'югатів, L-аргініну, сумарної NO-синтази, стабільних метаболітів оксиду азоту гомогенату легень);
- математичні: обробка числових значень результатів експериментів за методом варіаційної статистики з обчисленням критерію Стюдента.

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше доведено роль в патогенезі експериментально змодельованого гіперчутливого пневмоніту і спричиненого знерухомленням стресу зрушень цитокінового статусу, імунних процесів, вільнорадикально-окисних і антиоксидантних механізмів, відхилень параметрів системи оксиду азоту крові і легень.

Уперше відзначено, що гіперсенситивний пневмоніт з викликаним іммобілізацією стресом, спричиняє послаблення клітинного та інтенсифікацію гуморального імунітету, з переважанням на 24-у добу експерименту.

Уперше встановлено зниження IL-10, зростання прозапальних цитокінів, домінуюче на 14-у і 24-у доби експерименту за відтворення гіперчутливого пневмоніту і зумовленого знерухомленням (імобілізаційного) стресу.

Уперше визначено, що розвиток змодельованого гіперчутливого пневмоніту при стресі внаслідок імобілізації супроводжується індукцією вільнорадикального окиснення ліпідів, більш вираженою на 14-у і 24-у доби експерименту, на фоні поступового пригнічення антиоксидантних систем.

Уперше помічено, що при експериментальному гіперсенситивному пневмоніті і стресі, спричиненому імобілізацією, в легенях відбувається наростання сумарної активності NO-синтаз, стабільних метаболітів оксиду азоту, домінуючи на 24-у добу експерименту, при зниженні L-аргініну.

Уперше при моделюванні гіперсенситивного пневмоніту з обумовленим знерухомленням стресом встановлено імунорегулюючий, протиоксидантний, цитокінокоректуючий вплив тіотриазоліну з корвітином.

Практичне значення отриманих результатів. Одержані результати досліджень дозволяють удосконалити знання механізмів патогенезу експериментального алергічного альвеоліту та індукованого імобілізацією стресу, і можуть далі застосовуватись в науково-дослідній і педагогічній роботі. Виявлений антиоксидантний та імунокоригуючий ефект досліджуваних лікарських засобів обнадіює щодо їх вивчення стосовно корекції імунізаційних та обмінних порушень за експериментального алергічного альвеоліту і імобілізаційного стресу та розробки методичних вказівок.

Результати дослідження були використані під час навчання 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 засвідчено актами впровадження.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійним науковим дослідженням здобувача, що особисто провів інформаційний пошук, аналіз літературних джерел, розробила алгоритм досліджень, змоделювала експериментальний алергічний альвеоліт і іммобілізаційний стрес, провела експерименти і статистичне опрацювання отриманих даних. Написано і оформлено дисертацію, сформульовано висновки. При написанні роботи авторка не використовувала раніше опублікованих матеріалів співавторів наукових публікацій за темою дисертаційного дослідження. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертантці належить визначальна співучасть у виконанні експериментальної частини роботи, статистичної обробки, узагальнення одержаних даних, підготовки матеріалів до друку.

Апробація результатів дисертації. Результати дисертаційної роботи оприлюднено на: Пленумі Українського наукового товариства патофізіологів «Особливості науково-педагогічного процесу в період пандемії COVID-19» (Тернопіль, 2022), XXI читання ім. В.В. Підвисоцького (Одеса, 2022).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 8 наукових праць. З них 5 статей у наукових фахових виданнях України, 1 – в іноземних періодичних виданнях, 2 публікації у матеріалах Пленуму Українського наукового товариства патофізіологів «Особливості науково-педагогічного процесу в період пандемії COVID-19», Бюлетень XXI читань ім. В.В. Підвисоцького.

Обсяг та структура дисертації. Дисертаційна робота викладена українською мовою на 199 сторінках комп'ютерного тексту (основний обсяг становить 130 сторінок), складається з вступу, огляду літератури, розділу з описом матеріалів та методів, чотирьох розділів досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних джерел (всього 325 джерел, з них 286 іноземних), додатків. Робота ілюстрована 48 таблицями, 16 рисунками.

РОЗДІЛ І
СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО ЕПІДЕМІОЛОГІЮ, ЕТІОЛОГІЮ І
ПАТОГЕНЕЗ ЕКЗОГЕННОГО АЛЕРГІЧНОГО АЛЬВЕОЛІТУ ТА
СТРЕСУ
(ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1. Епідеміологія, етіологія і патогенез екзогенного алергічного альвеоліту

Екзогенний алергічний альвеоліт (гіперсенситивний пневмоніт) — імунітопосередковане захворювання, що виникає через повторне вдихання антигену, характеризується ураженням альвеол, інтерстиційної тканини легень і термінальних бронхіол внаслідок прогресування алергічних реакцій III та IV типів за Джеллом та Кумбсом [9, 55, 235, 250]. Захворюваність коливається від 0,3 до 0,9 випадків на 100 000 жителів або 0,9-2,71 на 100 тисяч людино-років, відрізняючись у населення різних країн: у Швеції — 20 випадків на 100 тисяч людино-років, у Данії — 1-3 на 100 тисяч осіб на рік, у США — 1,3-2,7 на 100 тисяч осіб, у Японії — 0,3-0,9 випадків на 100 тисяч осіб на рік, до 30 на 100 тисяч осіб на рік в Нью-Мексико, у Великобританії — до 1 на 100 тисяч [45, 65, 80, 106, 227, 230, 234, 239, 292].

У США частка алергічного альвеоліту серед інтерстиційних захворювань становила до 2%, у Європі — в межах 4-15%: в Данії — 7%, у Бразилії — 15%, в Індії — 47,3% [38, 250, 305]. У світі цей показник охоплює 1,5-13% усіх зареєстрованих випадків інтерстиційних захворювань легень, коливаючись в межах 2-47%, залежно від стану довкілля та професійних чинників, а поширеність становить менше 2 на 100 тисяч осіб, за іншими даними сягаючи 1,67-2,71 на 100 000 осіб за рік [45, 53, 65, 80, 227, 230, 234, 250, 251, 292]. Спостерігалось зростання значень даного показника з віком — від 0,95 на 100 тис. серед дітей віком 0-9 років до 11,2 на 100 тис. серед осіб віком старше 65 років [65, 127]. Поширеність хвороби серед дітей — 4 випадки на 1 млн., а захворюваність — 2 випадки на рік, загалом — 0,36 на 100 тис. дитячого населення на рік [22, 207, 305]. Кумулятивний рівень захворюваності коливався

в межах 1,28-1,94 на 100 тис. осіб [127, 151, 292, 303]. Смертність сягає 0,29 випадків на 1 млн. населення у віці старше 15 років [53].

Всього 1-5% повторних контактів з антигеном призводять до формування екзогенного алергічного альвеоліту, з них 12–28% (в середньому — 19%) випадків — на робочому місці, розвиваючись у 1,3-12,9% фермерів, 3,7-10,4% голубівників, 5-7% працівників птахофабрик, 3,5-29% грибників, 5% виробників солоду, 8% працівників деревообробної промисловості, 27% виробників деталей з поліуретану, 4,7% працюючих з ізоціанатами, 23% працюючих з раковинами молюсків, 5,2% працюючих з табаком, 52% працівників офісних приміщень [22, 65, 125, 151, 219, 239].

Безпосередня причина захворювання — повторне вдихання органічних часточок, величиною менше 5 мкм, що можуть містити понад 300 антигенів: рослинні і тваринні білки, гриби, бактерії, метали, низькомолекулярні хімічні речовини [38, 125, 140, 188, 227, 234, 250, 264]. Вперше хворобу описано в 1713 році у хліборобів Bernadino Ramazzini в трактаті «De Morbis Artificium Diatriba» [64, 219, 227, 239, 250].

М. Campbell у 1932 в звіті “Особливо вологий сезон сінокосіння у Вестморленді”, висвітлив ознаки “легені фермера” або “Фермерської легеневої хвороби” як “гострі симптоми після роботи з сіном”, причинами розвитку якої у 1-19% контактів є запуск гіперчутливості вдихуваними з зернового пилу, соломи, силосу, запліснявілого сіна антигенами спор та міцелію термофільних актиноміцетів: *Saccharopolyspora rectivirgula*, *Thermoactinomyces vulgaris*, *Thermoactinomyces viridis* і *Thermoactinomyces sacchari*, а також — *Micropolyspora faeni*, *Saccharomycetes spp.*, *Aspergillus*, *Absidia*, *Penicillium*, *Wallemia*, *Fusarium* [22, 64, 65, 70, 140, 227, 234, 239, 308]. У 1960-х роках Pepys продемонстрував роль гіперчутливості у патогенезі цього захворювання, виявивши антитіла до антигенів запліснявілого сіна у фермерів [301].

У грудні 1932 року було зафіксовано респіраторні симптоми у 10 працівників, що займались виготовленням шпал з кленової кори [64, 239]. Основна причина

алергічного альвеоліту робітників деревообробної промисловості — контакт з антигенами *Alternaria spp.*, *Bacillus subtilis*, *Mucor spp.*, *Rhizopus spp.* при роботі з пліснявою пилю деревиною кедра, ялини, сосни, секвої, при виробництві пробок [65, 140]. “Легеню паприки” охарактеризовано 1935 року, багасоз — у 1922 році як наслідок використання жому у виробництві ізоляційних плит [64].

На “Легені пташника”, що уражає 6-20% голубівників та 0,5-7,5% власників хвилястих папуг, припадає 66-68% випадків алергічного альвеоліту, і це є вперше встановленим його типом серед дітей [70, 140, 188, 207, 239, 292]. Було доведено, що у 76,6% осіб з “Легенями пташника” був тривалий контакт з птахами: у 57,5% — з одним видом птахів, у 42,5% — з двома чи більше, що свідчить про значення сенсibilізації у формуванні даної патології [189, 265]. Причинами розвитку гіперчутливого пневмоніту в даному випадку є: вдихання антигенів кишкового муцину посліду птахів у 6-20% осіб, білків воску і пір’я «пухових» птахів, що потрапляють в повітря через подрібнення борідок пір’їн, контакт з сироваткою крові птахів, пуховими речами, нальотом пір’я і білками квітів, що осіли на пір’ї [64, 65, 70, 140, 239, 250, 284, 308]. “Легені любителів хвилястих папуг” є переважаючим типом алергічного альвеоліту у Великобританії [22].

“Легені користувачів зволожувачами повітря і кондиціонерами”, становлячи 15-70% випадків екзогенного алергічного альвеоліту, є переважаючим його типом у США та Індії, поширюючись серед офісних працівників внаслідок користування зволожувачами повітря, забрудненими термофільними актиноміцетами, ультразвуковими зволожувачами, зараженими мікобактеріями, домашніми зволожувачами повітря, системами кондиціонування, забрудненими *Thermoactinomyces spp.*, *Aspergillus spp.*, *Penicillium spp.*, *Actinomyces*, *Pullularia*, *Aureobasidium*, *Curvularia*, *Chaetomium*, *Penicillium*, *Cephalosporium*, *Mycobacterium avium* [22, 64, 65, 70, 100, 250, 258, 263].

“Легені плавця у басейні” викликані вдиханням *Mycobacterium avium* пари фонтанів і басейнів, “Легені гарячої ванни” — застосуванням хімічних речовин,

що сприяють розмноженню мікобактерій в джакузі та гарячих ваннах, де вода стає джерелом антигенів *Mycobacterium avium complex*, *Mycobacterium abscessus*, *Aspergillus fumigatus*, *Cladosporium spp.* [64, 65, 70, 239, 305, 308]. Гіперчутливий пневмоніт, зумовлений *Trichosporon spp.* або *Cryptococcus albidus*, які розмножуються в старих вологих дерев'яних будівлях, в структурі алергічного альвеоліту Японії посідає третє місце, поступаючись “легеням пташника” та “легеням фермера” [22, 64, 65, 101, 140, 188, 263, 305, 308].

Ізоціанат-асоційований гіперчутливий пневмоніт спричинений ангідридом ізоціанової кислоти при виробництві поліуретанових смол для гнучкої піни, синтетичного каучуку, лаків і фарб, а “Легені оператора”, найпоширеніший професійний тип у Великобританії, — у автомобільній і металообробній промисловості, рідинами, де розмножуються *Pseudomonas spp.*, *Mycobacterium avium complex*, *Mycobacterium immunogenum* [64, 65, 70, 301].

“Легеня грибника” викликана потраплянням з грибів та запліснявілого компосту в дихальні шляхи антигенів *Shitake*, *Bunashimeji*, *Himeji*, *Aspergillus*, *Thermophilic Actinomycetes*, алергічний альвеоліт музикантів — під час гри на саксофоні, волинці, тромбоні антигенів *Mycobacterium chelonae/abscessus*, *Fusarium spp.*, садівників — антигенів *Aspergillus fumigatus*, *Saccharopolyspora rectivirgula*, термофільних актиноміцетів з ґрунту, органічних відходів, цвілевих грибів овочів та фруктів, “Легеня сиромийника” і “Легеня виробника саямі” — *Penicillium spp.*, а під час приготування саямі — *Aspergillus spp.*, *Cladosporium spp.* [65, 140, 227, 308]. Виявлено випадки алергічного альвеоліту у працівників виробництва солоду та соєвого соусу [227].

В умовах високої вологості причиною алергічного альвеоліту є антигени *Aspergillus spp.*, *Cladosporium spp.*, *Penicillium spp.* цвілі, при роботі з запліснявілою цукровою тростиною — *Thermoactinomyces Sacchari*, в зубних техніків — метилакрилати; у пацієнтів на СРАР — антигени грибів забрудненої води, рятувальників — антигени *Pseudomonas spp.* бризок води [65]. У жителів міст України хвороба здебільшого обумовлена дією пташиних алергенів —

“Легені пташника” та антигенами грибів *Aspergillus spp.* [22]. Однак у 20-60% випадків причинний антиген ідентифіковано не було [53, 80, 239, 261, 281]. Доведено вплив генів головного комплексу гістосумісності на схильність до певного типу алергічного альвеоліту: при “легені голубівника” — вищі частоти алелей HLA-DR3, японському літньому типу — HLA-DQ3, “легені фермера” — антигени локусів HLA-A, HLA-B, HLA-C [80].

Після потрапляння в легені антигенів величиною до 5 мкм, стійких до перетравлення лізосомальними ферментами, альвеолярні макрофаги їх розпізнають, і мігруючи в тканину, фагоцитують [1, 134, 280, 286, 287]. Індуктори піддаються процесингу в протеасомах, експресуючись молекулами головного комплексу гістосумісності з активацією CD4+ і CD8+ [235, 324]. Не перетравлені частинки пошкоджують мембрани лізосом, обумовлюючи потрапляння гідролітичних ферментів у цитоплазму, вивільнення у позаклітинне середовище з руйнуванням клітин, що є джерелом K⁺ і H⁺, посилюючих активність гідролаз, тоді як Na⁺ і Cl⁻, що надходять в цитозоль, спричиняють набухання органел, зокрема і мітохондрій [196, 232, 324].

Порушення переміщення електронів крізь внутрішню мембрану пошкоджених мітохондрій, перенесення H⁺ поза АТФ-синтазним комплексом, зумовлює роз’єднання тканинного дихання та окисного фосфорилування, дисфункцію дихального ланцюга і енергозабезпечення [1, 228]. За рахунок цитокін-опосередкованої активації НАДН-оксидазної і мієлопероксидазної систем моноцитів і нейтрофілів, поряд з вивільненням реактивного заліза з пошкоджених лізосом, індукуючого реакції Фентона, та скиданням поза дихальним ланцюгом електронів на кисень внаслідок пошкодження мітохондріальних мембран, з’являються його активні форми — супероксид-радикал та перекис водню, обумовлюючи перекисне окиснення фосфоліпідів мембран альвеоцитів та багатого на фосфоліпіди сурфактанту [4, 96, 321].

Вміст мітохондрій у альвеоцитах II типу є найвищим серед клітин легень, і пошкодження їх мембран ініціює запуск мітохондріального шляху апоптозу

[230]. Спостерігається зниження утворення АТФ, синтезу білків ферментативної ланки та регенерації неферментних антиоксидантів, що інтенсифікує перекисне окиснення фосфоліпідів мембран клітин та органел. Через пов'язану з дефіцитом АТФ дисфункцію Na^+ - Ca^{2+} -обмінника та Ca^{2+} -АТФази, фіксуються розлади активного транспорту Ca^{2+} з цитозолу, що усугубляє роз'єднання тканинного дихання та окисного фосфорилування з появою активних форм кисню, індукує активність фосфоліпази А₂, викликаючи появу ейкозаноїдів і лізофосфоліпідів з детергентною дією в мембранах альвеоцитів та сурфактанті, спричиняючи клінічні прояви респіраторного дистрес-синдрому [126, 193, 215].

Після виходу з пошкоджених лізосом кислі протеази викликають перетравлення альвеоцитів і ендотеліоцитів, розщеплення глікопротеїнів, глікозаміногліканів, протеогліканів інтерстицію і стінок судин, підвищуючи проникність легневих капілярів, тоді як нейтральні протеази, розщеплюючи фібрин, колаген, еластин базальних мембран, зумовлюють зростання онкотичного тиску в ділянці ураження і набряк легень [1, 286].

Викликана лізосомальними ферментами виділення гранул тканинних базофілів спричиняє вихід хемоатрактантів, гепарину, гістаміну, який розширює артеріоли, підвищує проникність венул за рахунок вкорочення ендотеліоцитів і збільшення проміжків між ними, стимулює утворення вільнорадикальних форм кисню в макрофагах, посилення фагоцитарної активності, антигенної презентації, вивільнення тканинними базофілами $\text{TNF-}\alpha$, IL-6 , IL-8 , лімфоцитами — IL-4 , IL-10 , IL-13 , тоді як продукція тканинними базофілами IL-13 та IL-4 ініціює диференціювання Th-0 в Th-2 , активацію В-лімфоцитів, перетворення у плазмочити і синтез антитіл, диференціювання моноцитів у макрофаги та хемотаксис еозинофілів, що сприяє домінуванню алергічних реакцій III типу [266, 272].

При метаболізмі арахідонової кислоти клітинних мембран за циклооксигеназним шляхом синтезуються ейкозаноїди, зокрема накопичений у мультивезикулярних тільцях лейкотрієн В₄, що через зміни просторової

структури інтегринів LFA-1, Mac-1, VLA-4 полегшує переміщення нейтрофілів і моноцитів з судинного русла, які з альвеолярними макрофагами синтезують IL-1 і TNF- α , викликаючи появу в плазматичній мембрані ендотеліоцитів E-селектинів, ICAM-1, VCAM-1, сприяють адгезії лейкоцитів, а разом з ендотеліоцитами — хемокіни (IL-8, MCP-1, MIP-1a, RANTES, лімфотаксин, фракталкін), викликаючи хемотаксис гранулоцитів і лімфоцитів [86, 128, 173, 196, 201, 257, 270, 316].

В зоні ураження активується мієлопероксидазна та NO-синтазна системи (iNOs) макрофагів і нейтрофілів з появою активних форм кисню і OONO-, усугубляючи пошкодження альвеоцитів та ендотелію легневих капілярів, з фосфоліпідів мембран яких внаслідок перекисного окиснення ненасичених жирних кислот та активації фосфоліпази A2 іонами кальцію, утворюється фактор активації тромбоцитів, що викликає вкорочення ендотеліоцитів і збільшення проникності міжендотеліальних проміжків; вмонтовування тілець Вейбеля-Паладе в плазматичну мембрану ендотеліоцитів з появою на їх поверхні E- і P-селектинів, обумовлюючи зворотню адгезію з олігосахаридами лейкоцитів, з наступною взаємодією інтегринів лейкоцитів з імуноглобуліноподібними рецепторами ендотеліоцитів, спричиняє незворотню адгезію лейкоцитів, які з проникають в тканину легень [1, 91, 172, 179, 228, 232, 257, 290, 318]. Нейтрофіли та моноцити спонукають до переміщення в зону запалення нових клітин через синтез хемокінів: лімфотаксину, фракталкіну, IL-8, MCP-1, MIP-1a, RANTES [196].

CXCL10 моноцитів і нейтрофілів, індукує Th1, Th0 продукують IL-12, викликаючи диференціацію в Th1, що через MCP-1, MIP-1a викликають хемотаксис моноцитів, CCL-18 — лімфоцитарну інфільтрацію, продукцію IFN- γ і TNF- α ; IFN- γ – фагоцитоз, експресію молекул головного комплексу гістосумісності, представлення антигенів, функціонування індукційної NO-синтази, продукцію IgG як компоненту реакцій гіперчутливості III типу, хемокінів макрофагами, факторів росту, проліферацію фібробластів і синтез

колагену [64, 170, 196, 295]. Продукція Th0 IL-10 слугує чинником запуску гуморального імунітету, а через TGF- β пригнічується генерування вільних радикалів, TNF- α і IFN- γ , посилюється синтез IL-4 та IL-10 [179].

При домінуючій активності Th2-лімфоцитів продукується IL-4, через що посилюється поділ, диференціювання В-лімфоцитів, синтез антитіл з утворенням імунних комплексів, в яких незначно переважає антиген, що провокує гіперчутливість III типу, яка переважає, але є взаємоп'єднаною з гіперчутливістю сповільненого типу [31, 230, 295, 316]. Прикріплюючись до базальної мембрани судинної стінки, імунні комплекси активують комплемент класичним шляхом з формуванням мембраноатакуючого комплексу на мембранах клітин, тоді як фіксація моноцитів і нейтрофілів Fc-фрагментами до Fc-рецепторів антитіл імунного комплексу або приєднання лейкоцитів C3b-рецепторами до C3b, фіксованого на імунному комплексі (опсонізація), спонукає лейкоцити до вивільнення ними лізосомальних ферментів, вільних радикалів, цитокінів з подальшою інфільтрацією в тканину [1, 74, 75, 102, 118, 130, 139, 268, 295, 316, 317].

У пошкоджених капілярах відбувається утримання фактора Віллебранда на субендотеліальному колагені, злиття тілець Вайбеля-Паладе з ендотеліальною плазматичною мембраною, відкриття сайтів зв'язування тромбоцитів, їх агрегація через експресію рецепторів GP IIb/IIIa, активація фактора Хагемана, зсідання крові з розвитком ДВЗ-синдрому [1, 102, 118]. Імунні комплекси, фіксуючись на клітинах крові, зв'язують нейтрофіли та макрофаги, які їх фагоцитують, і C1-компонент комплементу з запуском його класичного шляху, що призводить до панцитопенії [74, 317].

У пошкодженій тканині легень антигенпрезентуючі клітини продукують IFN- γ , IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, TNF- α [64, 233, 322]. *sTNF- α* зв'язується з *TNFR-1*, спричиняючи апоптоз, клональне скорочення *CD4+* і *CD8+*, тоді як *tmTNF- α* взаємодіє з *TNFR-2*, наявним виключно на імунних клітинах: Т-лімфоцитах,

ендотеліоцитах, олігодендроцитах та клітинах мікроглії, що забезпечує їх проліферацію, міграцію і відновлення [100, 130, 278].

Ефекти *TNF- α* : а) збільшення ушкоджуючої дії LAK- та NK-клітин стосовно заражених вірусом і пухлинних клітин, включення активності антигенпрезентуючих клітин, зокрема макрофагів, Т- та В-лімфоцитів, їх поділ і диференціювання; б) сприяння утворенню активних форм кисню і азоту; в) апоптозу через подібність з *Fas*-лігандом; г) мітохондріальна дисфункція, руйнування ДНК; д) розпізнавання ефektorними пухлинних клітин у зв'язку з експресією на них молекул головного комплексу гістосумісності I типу; е) активація циклооксигеназного і ліпооксигеназного обміну арахідонової кислоти з синтезом простагландинів, простациклінів і лейкотрієнів, що веде до розширення артеріол, підвищення проникності венул, зростання кровотоку; є) поява молекул адгезії (E-селектинів та імуноглобуліноподібних молекул *ICAM-1*, *ICAM-2*, *VCAM*) на ендотеліоцитах посткапілярних венул; ж) через експресію генів *IL-8* в ендотеліоцитах хемотаксис нейтрофілів і моноцитів, продукція колоніестимулюючого фактора гранулоцитів і моноцитів, *IFN- γ* , *IL-1* і *IL-6*; з) стимуляція фібробластів та кератиноцитів; и) тромбоутворення внаслідок гіперреактивності тромбоцитів, сприяння адгезії; ї) активація остеокластів, резорбція кісткової тканини; й) перебудова гліколізу і пентозофосфатного шляху; к) підвищення споживання кисню клітинами, збільшення кількості мітохондрій [100, 167, 183, 255, 278].

Значення *IL-8* у патогенезі гіперсенситивного пневмоніту полягає у забезпеченні хемотаксис нейтрофілів, проходження Т-лімфоцитів через судинну стінку, вивільнення гранул базофілів, лізосомальних ферментів, регуляцію молекул адгезії, накопичення кальцію в клітинах, що має значення для пошкодження тканини легень [76, 183, 291].

Роль *IL-1* зводиться до включення продукування СХС- і ССL-хемокінів, *IL-8*, розмноження клітин міелоїдного ряду, Т- і В-лімфоцитів, фібробластів, вироблення колагену, активації NK-клітин, дозрівання моноцитів/макрофагів,

синтезу простагландину E2, експресії імуноглобуліноподібних рецепторів ендотеліоцитів для необоротної адгезії, утворення активних форм кисню і оксиду азоту, IL-12 і IFN- γ Т-лімфоцитами та NK-клітинами, сприяючи диференціюванню Th0 в Th1 і активуючи Th2, викликаючи алергічні реакції IV і III типів відповідно [61, 82, 183, 238, 310].

IL-6, продукуючись під дією IL-1, TNF- α , IFN- γ , індукує експресію рецептора C5a на поверхні ендотеліоцитів, фактора росту судинного ендотелію, коагуляцію і утворення фібринового згустку, активацію NK-клітин, трансформацію моноцитів у макрофаги, Т- та В-лімфоцитів у Т-цитотоксичні клітини і плазмоцити відповідно, збільшення IgG, імунокомплексних алергічних реакцій, що визначає зацікавленість у ролі даного цитокіну в патогенезі алергічного альвеоліту [64, 76, 141, 142, 174, 176, 183, 291, 297, 306].

Характерні ефекти IL-6: а) проліферація периферичних Т-клітин і в тимусі, утворення Т-хелперами *IL-2*, диференціювання Т-клітин у цитотоксичні, порушення імунологічної толерантності; б) диференціювання В-лімфоцитів в плазмоцити, продукція антитіл з утворенням імунних комплексів; в) посилення ліполізу та β -окиснення жирних кислот, експресії генів транспортерів жирних кислот; г) синтез білків гострої фази; д) регенерація гепатоцитів через STAT3; е) мегакаріоцитопоез; є) збільшення синтезу *VEGF* і ангиогенезу; ж) проліферація кишкового епітелію; з) ініціювання остеокластів, резорбція кісткової тканини; и) секреції кортиколіберину [158, 175, 176, 199, 210, 294].

IL-12 сприяє диференціюванню Th0 в Th1, інгібуванню транскрипційних факторів Th2, проліферації NK- і CD8⁺, інтенсифікації ангиогенезу, синтезу IFN- γ , TNF- α , IL-4, IL-13, IL-10, який з IL-4 та IL-13, продукованими Th2, зумовлює продукцію антитіл, посилення ангиогенезу, проліферацію фібробластів, синтез колагену і компонентів позаклітинного матриксу з ремоделюванням тканини легень, формування гранульом і ділянок фіброзу у вигляді фібриноїдного некрозу, оточеного зоною інфільтрації лімфоцитів,

макрофагів та нейтрофілів, по периферії — фіброзом, проявляючись потовщенням міжальвеолярних перегородок [67, 106, 139, 146, 188, 293].

Враховуючи вищезазначене, можна стверджувати про чільне місце цитокінів у формуванні алергічного альвеоліту як захворювання з паралельним залученням гуморальної і клітинної ланок імунної системи, що обумовлює поєднання реакцій гіперчутливості III та IV типів відповідно у патогенезі даної нозології. За результатами досліджень, вже було показано, що в пошкодженні легень невід’ємну роль відіграє поєднання дизбалансу прооксидантно-антиоксидантних систем і системи оксиду азоту, але точна взаємодія і внесок кожного з патогенетичних механізмів розвитку хвороби досі не встановлений [2, 10, 11, 247, 248]. Прогресування захворювання, поява ускладнень та інвалідизації обумовлює потребу детальнішого вивчення патогенезу алергічного альвеоліту для пошуку засобів його лікування чи фармакокорекції.

1.2. Актуальність і патогенез стресу

В умовах сьогодення психологічні розлади турбують 31-41% населення світу [51]. Стрес обтяжує перебіг і підвищує смертність понад 75% захворювань, а в період пандемії COVID-19 його поширеність становила 53% респондентів, коливаючись в Китаї в межах 8,1-29,29%, в Індії — 11,6% в Італії — 14,6% всіх респондентів [180, 191].

Встановлено роль навчального процесу як стресора: так, 34% опитаних студентів коледжу в Іспанії підтвердили наявність у себе стресу, як і 34,3% студентів Джазанського університету у Саудівській Аравії, 52,7% студентів Пенджабського університету у Пакистані, 53% студентів медичного факультету університету Фейсала в Саудівській Аравії, 40,4% студентів університету Арсі в Ефіопії, студентів-фармацевтів у Нігерії — 35%, студентів стоматологічних коледжів у Індії — близько 44%, учнів середньої школи в Іраку становила 51,1%, в Малайзії — 44,9%, Саудівській Аравії — 52,5% [40, 44, 48, 50, 222,

243, 279]. Сильне відчуття стресу турбувало 12,7% студентів, через сприйняття навчання важчим, ніж очікувалось у 71% з них [49,124].

Зв'язок з професійною діяльністю висвітлено у дослідженні Тегеранського Університету Медичних Наук, де показано, що стрес переживали 33,8% медичного персоналу, 15,7% медсестер швидкої допомоги у Нідерландах, 64% в Ірландії, 52,3%, у Йорданії, 38,9% медсестер паліативної допомоги у Польщі, 13% фельдшерського персоналу у США, 12,7% лікарів екстренної медичної допомоги у США, 14,5% — у Бельгії, 15,4% — у Пакистані, 16,8% — у Німеччині, 34,4% офіціантів, 8,3-87,1% педагогічних працівників (у країнах Європи — 10-40%, у Німеччині — 22%, Нігерії — 72,2%, Ефіопії — 58,2%, Малайзії — 32,3%) [39, 116, 122, 172, 229, 259, 307, 317].

Виявлено виникнення стресу у 21,3% військових і 25,7% цивільних у зоні військових дій, у біженців у Німеччині — 34,9%, Швейцарії — 32,8%, Австралії — 29,5%, Італії — 30%, у 27,38% бездомних, у батьків госпіталізованих дітей віком до 1 року — 24,5%, після року — 27,1% [57, 114, 195, 202, 224].

Стрес як стан напруження неспецифічних адаптаційних механізмів включає 3 стадії за Сельє: 1) тривоги, тривалістю 6-48 годин, яка супроводжується інволюцією тимуса, селезінки, лімфовузлів, зростанням функціональної активності клітин з запуском гострої реакції, поділяється на: а) фазу шоку, з властивою м'язевою гіпотонією, артеріальною гіпотензією, підвищенням проникності судинної стінки, ексудацією, згущенням крові, лейкоцитозом з подальшою лейкопенією та еозинопенією; б) контршоку з активацією гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової і симпато-адреналової систем; 2) резистентності, тривалістю до 14 днів, коли забезпечується адаптація до дії стресора, з гіпертрофією наднирників, атрофією гонад, еозинофілією крові; 3) виснаження (дистрес), що починається з 15-ої доби у вигляді пригнічення функцій і захисних сил [156, 254, 300].

Основні гормони-регулятори стресу — катехоламіни, кортиколіберин, кортикотропін і глюкокортикоїди [44]. Повільна реакція на стрес здійснюється

за участі гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової системи, що проявляється активацією гліюкогеногенезу і гліколізу, швидка реакція — симпатичною нервовою системою, маркерами чого є зростання альфа-амілази, хромограніну А, альдостерону, реніну і вазопресину слини [98, 137, 165, 260].

Було показано, що катехоламіни можуть пригнічувати синтез прозапальних TNF- α , IL-6 та IL-1 β , стимулюючи продукцію IL-10 і мобілізацію гуморального імунітету, але при дії адреналіну на β 2-адренорецептори внаслідок пригнічення NF- κ B макрофаги через 2 години починають продукувати TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 та IL-10, стимулюючи клітинну і гуморальну ланки імунітету, а внаслідок активації фактора фон Віллебранда і VIII — посилення агрегації тромбоцитів і зсідання, генеруванням активних форм кисню [43, 92, 142, 158, 187]. В легенях 90% β -адренорецепторів локалізовано в альвеоцитах, з яких частка β 2-адренорецепторів, які присутні на макрофагах і лімфоцитах, — 70%, внаслідок чого катехоламінергічні ефекти в легенях значно виражені [43].

Регуляція стресу здійснюється через зв'язки преоптичної ділянки, лімбічної системи і середнього мозку з латеральними відділами гіпоталамуса. Активацію осі гіпоталамус-гіпофіз-наднирники здійснює норадреналін та серотонін, а пригнічення — ГАМК, рівень якого внаслідок впливу гормонів медіального відділу гіпоталамуса на синтез кортикотропін-рилізінг гормону в серединному підвищенні зростає [73]. Парвоцелюлярні клітини паравентрикулярного ядра гіпоталамуса, в які конвергують імпульси від нейронів кори головного мозку про небезпеку, у відповідь на норадренергічну аферентацію з нейронів ядра солітарного тракту, активованого вагальною аферентацією, продукують гормони стресу — аргінін-вазопресин та кортиколіберин, що утворюється і нейронами ядра термінальної пластинки, нижнього оливного комплексу, ядра Баррінгтона, центрального мигдалевидного ядра [73, 81, 99, 168]. Кортиколіберин стимулює передню частку гіпофіза для синтезу кортикотропіну з опіомеланокортину, що викликає синтез глюкокортикоїдів пучковим шаром наднирників [168].

Норадреналін синтезується в нейронах каудальних відділів ядра солітарного тракту, латерального ретикулярного ядра довгастого мозку, додатковому ядрі блукаючого нерва, руховому ядрі під'язикового нерва, нижньому оливному ядрі і, найбільшою мірою — в нейронах синьої плями, що проектується на таламус, гіпоталамус, гіпокамп, смугасте тіло, мигдалик, периакведуктальну зону, мозочок, нюхову цибулину, покришку, ядро шва та нейрони дорсального рухового ядра блукаючого нерва, після отримання імпульсів від орексинових нейронів гіпоталамуса, здійснює ефекти переважно через α -адренорецептори, відіграючи роль у формуванні пам'яті, уваги, пізнанні, регуляції збудження-неспанья, циркадного ритму, модуляції болю та стресу [89, 104, 220, 256].

Отримавши імпульсацію від синьої плями, аференти дорсального рухового ядра блукаючого нерва проектується на нейрони ядра одинокого шляху, звідки надходить імпульсація до синьої плями, паравентрикулярного та аркуатного ядер гіпоталамуса, парабрахіального ядра, перивентрикулярного ядра таламуса, медіальної преоптичної області, центрального ядра мигдалеподібного тіла, тоді як паравентрикулярне ядро гіпоталамуса проектується на дорсо-медіальне та дугоподібне ядра гіпоталамуса, парабрахіальне ядро, медіальну преоптичну область, а парабрахіальне ядро — на центральне ядро мигдалевидного тіла та паравентрикулярне ядро таламуса, яке завершує коло зворотнього зв'язку проекцією на нейрони ядра одинокого шляху [81].

Роль синьої плями у регулюванні психо-емоційного збудження зафіксовано експериментами на щурах і мавпах, яких піддавали неспанню, де виявлено збільшення її активності під дією зорових, слухових та сенсорних подразників, підкреслюється значення щодо імпульсивної поведінки та неспанья [63, 108].

Синя пляма — скупчення 22-52 тисяч норадренергічних нейронів біля основи четвертого шлуночка в дорсолатеральному покриві моста, активність якого стає максимальною за умов тривоги і стресу, забезпечуючи його усвідомлення, емоційне реагування на дію стресора, сприйняття новизни і формування

довготривалої пам'яті через проєкції на β -адренорецептори дорсального гіпокампа, будучи для нього єдиним джерелом норадреналіну [138].

У мигдалеподібному тілі конвергує інформація з кори, підкірки та таламуса, а надмірна активація норадренергічних проєкцій між ним і синьою плямою реалізує відчуття страху, загрози, емоційної нестійкості, тривоги, депресії чи стрес [145]. Взаємодія з синьою плямою центрального ядра мигдалеподібного тіла забезпечує інтеграцію емоційних і когнітивних реакцій; його ростральної частини (вентрального і центрального ядер) — реагування на афективні стимули, навчання щодо аверсивних подій, тоді як дія синьої плями на гіпокамп здійснює вплив на пам'ять і навчання; мозолисте тіло — збудження, регуляцію уваги та когнітивну оцінку болю; з перивентрикулярним та супраоптичним ядрами гіпоталамуса — індукцію гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової осі до відповіді на вплив загрозового чинника [77, 145, 220, 256, 271].

Синя пляма, функціонування якої регулюється ГАМК та глутаматом префронтальної кори, періакведуктальної сірої речовини та латеральних відділів гіпоталамуса, отримує аферентну імпульсацію від середнього мозку, вентролатеральних і дорсомедіальних відділів стовбуру для забезпечення поведінкової орієнтації, вентральної тегментальної області — депресивних реакцій, супрахізматичного ядра — регуляції збудження, а також від острівця, мигдалевидного тіла та префронтальної кори, де надмірна дія норадреналіну на $\alpha 1$ -адренорецептори призводить до розладів контролю над емоціями [62, 220]. Ядро солітарного тракту, проєктуючись на дугоподібне ядро гіпоталамуса, стимулює вживання їжі, на парабрахіальне ядро — пригнічує [108, 271].

Вивчення впливу гострого стресу на функції клітин, стан імунної системи і цитокіновий статус потребує детальнішого розгляду особливостей катехоламінів як факторів, що запускають патогенез стресу, та їх рецепторів. Функції β -адренорецепторів реалізуються через аденілатциклазну систему, фосфорилування факторів транскрипції та білків кальцієвих каналів з їх відкриттям [120, 298, 312]. $\beta 1$ -адренорецептори в 10 разів чутливіші до

норадреналіну, а β 2-адренорецептори сприймають вплив переважно адреналіну, становлячи близько 70% β -адренорецепторів легень [72, 120, 155]. Стимулювання α 2-адренорецепторів викликає пригнічення аденілатциклазної системи, зростання калієвої провідності і пригнічення функціонування кальцієвих каналів, а α 1-адренорецепторів – активацію фосфатидилінозитолового шляху і підвищення концентрації кальцію [120, 155, 209, 298].

β -адренорецептори асоційовані з протизапальними функціями імунних клітин, а α -адренорецептори — з прозапальними, індукуючи синтез TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8, IL-12 і стимулювання клітинної ланки імунної системи [129]. Відомо, що з еферентних закінчень блукаючого нерва виділяється ацетилхолін, який впливаючи на α 7-нікотинові ацетилхолінові рецептори макрофагів, обумовлює пригнічення продукції ними IL-1, IL-6, TNF- α , тоді як при взаємодії блукаючого нерва з симпатичним селезінковим нервом з нервових закінчень останнього вивільняється норадреналін, що зв'язується з β 2-адренорецепторами T-лімфоцитів, які виділяють ацетилхолін, що діє на вищевказані α 7 нікотинові ацетилхолінові рецептори макрофагів [81, 156].

У мієлоїдних клітин наявні α - і β -адренорецептори, у лімфоцитів більше β 2-адренорецепторів, найвища щільність яких на CD8+-супресорах, далі — CD8+-цитотоксичних клітинах і CD4+-хелперах, через які переважно реалізується дія катехоламінів на лейкоцити [148, 164, 171, 178, 221, 274]. Стимуляція β 2-адренорецепторів спричиняє зниження активності мієлопероксидази, рівнів IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, IL-18, TNF- α , IFN- γ , IP-10, MIP-1 α та MCP-1, ICAM, поряд зі зростанням IL-4 і IL-10, зменшенням утворення активних форм кисню [94, 171, 274, 282]. Взаємодія норадреналіну з β 2-адренорецепторами макрофагів знижує експресію молекул головного комплексу гістосумісності, представлення антигену T-лімфоцитам, збільшуючи її B-лімфоцитами для CD4+, продукцію IgG, IgE і гуморальну імунну відповідь [171, 274].

Взаємодія катехоламінів з адренорецепторами імунних клітин від початку стресу проявляється еозинопенією, послабленням дегрануляції базофілів,

зменшенням цитотоксичності CD8+, проліферації Т-лімфоцитів, продукції IL-2 CD4+ і TNF- α моноцитами, адгезії, хемотаксису та міграції лейкоцитів, продукції IL-12 і IL-18, фагоцитозу, генерації активних форм кисню, дозрівання та цитотоксичності NK-клітин, утворення ними IFN- γ і TNF- α , продукції імуноглобулінів [1, 97] Однак при дії на β 2-адренорецептори NK-клітин встановлено посилення їх ефektorних властивостей, продукції IFN- γ [94, 117].

Проте вплив адреналіну на моноцити через α -адренорецептори може збільшувати експресію L-селектинів, MMP-1, синтез NO за рахунок NOS2, міграцію лейкоцитів [97]. Дія норадреналіну на β 2-адренорецептори нейтрофілів проявляється активацією мієлопероксидази, утворенням активних форм кисню, позаклітинних пасток нейтрофілів, гіперпродукцією IL-6, зниженням IL-10, запобіганням переміщення лімфоцитів у тканини, зміною експресії хемоатрактантів, молекул адгезії ендотеліоцитами, завдяки чому можна стверджувати про наявність імунорегулюючого ефекту катехоламінів під час стресу [129, 135, 178, 225].

Продуковані внаслідок активації симпато-адреналової системи IL-1, IL-6 і TNF- α стимулюють гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникову вісь, взаємодіючи з рецепторами нейронів дорсального ядра блукаючого нерва, що передають сигнали до ядра поодинокого шляху, звідти — до гіпокампа, мигдалевидного тіла і парвоцелюлярних нейронів паравентрикулярного ядра гіпоталамуса, які виділяють кортиколіберин і аргінін-вазопресин [42, 78, 84, 200, 204, 285]. IL-1 β , вивільнений з інфламмасом макрофагів і мікроглії, теж стимулює вищевказані нейрони гіпоталамуса [129, 156, 180, 213].

Кортикотропін-релізінг гормон активує нейрони базальних прозенцефальних областей, таламуса, гіпоталамуса, стовбура мозку через NF- κ B, який запускає синтез IL-6, IL-11, молекул адгезії, головного комплексу гістосумісності [204]. За умов дії вивільненого АКТГ нейронами центрального мигдалевидного ядра на рецептори базолатеральних відділів мигдалевидного тіла відбувається індукція емоційно-забарвлених спогадів про стрес; при виробленні

інтернейронами гіпокампа і дії на пірамідні клітини — пам'ять і навчання щодо впливу стресора; при продукуванні у ядрі термінальної пластинки після дії на прилегле ядро — модулювання тривоги [241].

Рецептори до глюкокортикоїдів розповсюджені в олігодендроцитах, астроглії та мікроглії від стовбура до префронтальної кори [113, 151, 182]. Дія на рецептори кортикостерону в гіпокампі, зубчастій звивині, мигдалеподібному тілі, латеральній перегородці, неокортексі, префронтальній корі, паравентрикулярному ядрі гіпоталамуса призводить до пригнічення реагування на стресор через інгібування нейронів паравентрикулярного ядра [119, 181, 240, 252]. Глюкокортикоїди знаходяться в цитоплазмі у вигляді мультибілкового шаперонного комплексу з білками імунофілінів KBP51, FKBP52, Сур44 і РР5 та теплового шоку 56, 70 та 90 (hsp56, hsp70, hsp90), з якого гормон звільняється після зв'язування з лігандом, і транспортується до ядра, через взаємодію з сайтами зв'язування ДНК як гомодимер, стимулює транскрипцію прозапальних факторів, запуск апоптозу або впливає на негативні сайти глюкокортикоїдних рецепторів, пригнічуючи транскрипцію [66, 119, 121, 197, 208, 252, 302].

Короткочасний вплив глюкокортикоїдів на мітохондрії, що еквівалентно гострому стресу, проявляється активацією ферментів дихального ланцюга, тривалий, еквівалентно хронічному стресу, — пригніченням цитохром-С-оксидази, зниженням утворення АТФ, генеруванням активних форм кисню, пошкодженням мембран мітохондрій, зниженням їх мембранного потенціалу та запуску мітохондріальних механізмів апоптозу, в тому числі внаслідок прямої активації глюкокортикоїдами проапоптичних білків сімейства Bcl-2 Bim, що стимулює Bax, вихід цитохрому С, активацію каспаз [181, 231].

Ефект глюкокортикоїдів і мінералокортикоїдів полягає в інгібуванні нейронів паравентрикулярного ядра і зниженні мРНК кортиколіберину вентральним відділом гіпокампа (subiculum ventralis) через ГАМК-ергічні нейрони задніх та передньо-латеральних відділів термінальної пластинки, медіального преоптичного та дорсомедіального ядер [69, 85, 110, 113, 152, 276].

В умовах стресу нейрони базолатеральних відділів мигдалевидного тіла стимулюють медіальне та центральне ядра мигдалевидного тіла: імунні стимули, біль, вегетативна імпульсація парабрахіального ядра активує центральне ядро мигдалевидного тіла, що посилює синтез кортиколіберину, а психогенні стресори — медіальне ядро, що забезпечує контроль соціальної поведінки та агресії [85, 152].

Мигдалеподібне тіло, отримуючи вагусну вегетативну інформацію, запускає гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникову вісь через нейротрансмісію за участі норадреналіну, серотоніну і глюкагоноподібного пептиду-1, індукуючи активність клітин медіального парвоцелюлярного відділу паравентрикулярного ядра, зниження глюкокортикоїдних рецепторів у гіпокампі, пригнічення активності нейронів задніх відділів термінальної пластинки за участі центрального ядра мигдалевидного тіла і стимулювання нейронів передніх відділів термінальної пластинки нейронами медіального ядра мигдалевидного тіла, паралельно з чим глюкокортикоїди стимулюють префронтальну кору, що послаблює негативний зворотній зв'язок [69, 152, 213]. Паравентрикулярне ядро оточене ГАМК-ергічними нейронами, які отримують аферентацію з гіпокампа, ядра шва, латеральної перегородки, передньо-вентральних і задніх відділів термінальної пластинки, преоптичного та дорсомедіального ядер гіпоталамуса за умов активації його ГАМК-ергічних вентромедіальних відділів, забезпечуючи гальмівний ефект; пре- та інфралімбічної кори, що опосередковує транссинаптичне гальмування, а блокада іонотропних глутаматних рецепторів навколо паравентрикулярного ядра посилює реагування кортикостерону на стрес, аналогічно ефектам нейронів ядра поодинокого шляху, передньо-медіальних відділів термінальної пластинки, глутаматергічних нейронів заднього гіпоталамуса і дорсолатерального відділу дорсомедіального ядра, медіальної префронтальної кори та інфралімбічної області через реле у стовбурі мозку щодо медіального парвоклітинного паравентрикулярного ядра та, як наслідок, утворення кортиколіберину та АКТГ [152, 276].

При хронічному стресі нейрони заднього гіпоталамуса та ядра поодинокого шляху, отримуючи аферентацію від венстромедіальної префронтальної області, центрального ядра мигдалевидного тіла, кори головного мозку, активують паравентрикулярне ядро, що через взаємодії з мигдалевидним тілом, вентральними відділами гіпокампа та префронтальною корою запускає активність гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової осі, тоді як інфра- та прелімбічні відділи префронтальної кори і вентральні відділи гіпокампа активують ГАМК-ергічні нейрони паравентрикулярного ядра гіпоталамуса, які з дорсомедіальним ядром і нейронами термінальної пластинки інгібують паравентрикулярне ядро, а мигдалевидне тіло активує нейрони задніх відділів гіпоталамуса, пригнічуючи нейрони термінальної пластинки і дорсомедіального ядра, що веде до активації паравентрикулярного ядра [103, 110, 152, 216, 276].

Вплив префронтальної кори через термінальну пластинку і вентральні відділи гіпокампа по глутаматергічних еферентах до мигдалевидного тіла і області переднього мозку, що формують ГАМК-ергічні еференти до нейронів паравентрикулярного ядра, послаблюється під час розвитку хронічного стресу, коли відзначається активація глюкокортикоїдних рецепторів в прелімбічній ділянці, збільшення експресії AMPA та NMDA рецепторів, інгібування ГАМК-ергічних еферентів з активацією паравентрикулярного ядра, зростання кількості серотонінергічних рецепторів у гіпокампі, мигдалеподібному тілі і фронтальній корі, що має значення у модулюванні пластичності нейронів, гіпокампальному нейрогенезі [103, 152, 213, 253].

АКТГ, рівень якого високий при хронічному стресі, пригнічує проліферацію Т-лімфоцитів, утворення IFN- γ , посилює — В-лімфоцитів, їх диференціювання і синтез IgE, продукцію макрофагами IL-6 і TNF- α , активність нейрональної та індукцибельної синтаз оксиду азоту префронтальної кори та гіпоталамуса [54, 71, 161, 249, 315]. Геномні впливи на мінералокортикоїдні рецептори нейронів лімбічної системи визначають поріг чутливості щодо стресу, негеномні — оцінку вираженості стресу і вибір методики подолання стресора;

глюкокортикоїдні рецептори регулюють ініціацію та зупинку відповіді на стрес, характер поведінки, апетит та відчуття страху [111, 223]. Експресія мінералокортикоїдних рецепторів у гіпокампі корелює з підвищенням порогу чутливості до стресора, низькою базальною активністю симпатoadреналової системи, стимулюванням ГАМК-ергічних інтернейронів довкола паравентрикулярного ядра, пригніченням входження кальцію під дією катехоламінів через кальцієві канали нейронів паравентрикулярного ядра і їх пригніченням [109].

мРНК глюкокортикоїдних рецепторів типу α представлена у нейронах, макрофагах, альвеоцитах, гранулоцитах, а типу β , який пригнічує експресію рецепторів типу α в генах-мішенях, одночасно послаблюючи транскрипцію IL-5 та IL-13, — в ядрі НК-клітин, моноцитів, Т- і В-лімфоцитів, які посідають проміжне місце між нейтрофілами та моноцитами за експресією даних рецепторів [194, 197, 203, 212, 214, 277, 289, 319]. У легенях, де наявні всі ферменти стероїдогенезу (P450-гідроксистероїддегідрогеназа, 11 β -гідроксилаза, 11 β -гідроксистероїддегідрогеназа), вказані рецептори виявлено в альвеоцитах, ендотеліоцитах, альвеолярних макрофагах, фібробластах [41, 211, 212]. Ефект гормонів реалізується через пригнічення AP-1 і NF- κ B, запуск транскрипції і продукції IL-1, IL-6, TNF- α , тоді як високі дози зменшують синтез молекул адгезії, IL-1, IL-2, IL-6, IL-12, IFN- γ і TNF- α , фагоцитарну активність, проліферацію фібробластів, Т- і В-лімфоцитів з запуском їх апоптозу [46, 52, 87, 88, 105, 123, 152, 160, 277, 283, 299, 302, 313, 319]. IL-1, IL-6, TNF- α , IFN- γ ініціюють утворення кортиколіберину і кортикотропіну через інгібітор NF- κ B; IL-1 і TNF- α — експресію глюкокортикоїдних рецепторів у лімфоцитах, IL-18 — β -типу рецепторів у моноцитах, IL-8 — у нейтрофілах, IL-2 та IL-4 — у моноцитах, тоді як IL-17 та IL-23 її пригнічують [41, 83, 213, 237, 323]. Тобто закономірно простежуються “зачаровані кола” в патогенезі стресу між його ендокринною регуляцією та цитокіногенезом.

Під час стресу глюкокортикоїди зумовлюють короткочасне пригнічення фагоцитозу, утворення активних форм кисню, дегрануляції тканинних базофілів [299]. Внаслідок розгальмовування NF-κB зростає синтез молекул адгезії, хемокінів, IL-1, IL-6, проліферативна відповідь Т-лімфоцитів на IL-2, чутливість рецепторів до IFN-γ з поступовим виснаженням імунних реакцій, апоптозом лімфоцитів, макрофагів і гранулоцитів [105, 108, 162, 167, 204].

Нині відомо про експресію мРНК тиреоліберину у паравентрикулярному і супрахізматичному ядрах, появу ділянок синтезу тиреоїдних гормонів в епендимальних клітинах 3 та 4 шлуночків головного мозку під час стресу, посилення продукції тиреотропного гормону кортизолом, нейропептидом Y, послаблення — IL-1β, IL-6, TNF-α, які в умовах стресу продукуються вже через 30 хвилин-4 години [54, 132, 153, 162, 248, 325]. Гострий стрес зумовлює активацію гіпоталамо-гіпофізарно-тиреоїдної осі з утворенням кортиколіберину в паравентрикулярному ядрі гіпоталамуса, що проявляється генеруванням активних форм кисню через активність мієлопероксидази, інтенсифікацією фагоцитозу, хемотаксису, через стимулювання NF-κB — продукції IgM і IgG плазмочитами, MIP-1α, MCP-1, IL-1β і IL-6 макрофагами, IL-2 Т-хелперами з запуском поділу і диференціювання Т-клітин, хоч повідомлялося і про апоптоз Т-лімфоцитів, асоційований зі зниженням мітохондріального антиапоптичного білка Bcl-2 [3, 16, 112, 189, 218, 262]. Гіперпродукція тиреоїдних гормонів пов'язана з гострим стресом, а зниження — з хронічним.

Різні гормони через відповідні рецептори нейронів лімбічної системи, гіпофіза та гіпоталамуса здійснюють свій вплив на розвиток стресу, тому для досконалішого вивчення його патогенезу варто мінімізувати сторонні ендокринні зрушення [41, 42, 43, 54, 90, 147, 206, 309]. Так, нейропептид Y індукує синтез IL-1, IL-6, TNF-α та TGF-β макрофагами і мікроглією [180]. Пролактин збільшує фагоцитарну активність, продукцію оксиду азоту, хемокінів, експресію рецепторів IL-2, MIP-1α, MCP-1, протизапального IL-10, прозапальних IL-1, IL-6, L-23, IFN-γ, TNF-α макрофагами, активує Т-хелпери 1

типу і клітинну імунну відповідь, CD8+ і NK-цитотоксичність [46, 150, 192, 244]. Естрогени при взаємодії з β -естрогеновими рецепторами пригнічують вивільнення АКТГ, тоді як андрогени пригнічують нейрони паравентрикулярного ядра через ядро термінальної пластинки [216]. Соматотропін активує апоптоз, хемотаксис, проліферацію та цитотоксичність Т- та NK-клітин, а дія на рецептори аркуатного, паравентрикулярного, вентромедіального ядер гіпоталамуса, гіпокампа та мигдалевидного тіла забезпечує реагування на стрес [46].

Варто розглянути патогенетичні особливості розвитку стресу в динаміці більш інтегровано. Так, в перші 20-30 хвилин відбувається міграція імуніцитів в судинне русло, короткочасне пригнічення адгезії (індукована через 30 хвилин дії адреналіну, 1 годину дії глюкокортикоїдів), міграції лейкоцитів (через 1 годину впливу глюкокортикоїдів, 90 хвилин впливу катехоламінів на $\alpha 2$ -адренорецептори, 6 годин активації норадреналіном $\beta 2$ -адренорецепторів), активація Т-цитотоксичних та NK-клітин з подальшим їх інгібуванням і зменшенням чисельності через 2 години під дією катехоламінів внаслідок повернення в зону початкової локалізації (наслідок — зниження клітинної імунної відповіді), індукуванням катехоламінами через 30 хвилин NF- κ B з продукцією IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α вже через 4 години, подальшим зростанням моноцитів та нейтрофілів крові (в перші 2 години — під впливом катехоламінів, через 6 годин — глюкокортикоїдів), потраплянням їх в судинне русло, появою на поверхні молекул адгезії VCAM-1 внаслідок активації $\beta 2$ - і $\beta 3$ -адренорецепторів, ICAM-1, P- та E-селектинів через стимулювання $\beta 2$ -адренорецепторів ендотеліоцитів до 5 днів, ініціювання хемотаксису, утворення CXCR4 через 2-4 години під впливом мінералокортикоїдів і активації $\beta 2$ -адренорецепторів з ініціюванням переміщення лімфоцитів до лімфовузлів, генерування вільних радикалів вже через 90 хвилин внаслідок активації β -адренорецепторів [143, 162]. Отже, у фазу тривоги спостерігається зростання рівня прозапальних цитокінів, в фазу виснаження — їх зниження.

Короткочасний гострий стрес супроводжується збільшенням експресії CXCR4, вмісту гранулоцитів крові, їх адгезії, концентрації IgM, IgG, IgA, НК-цитотоксичності, проліферації CD8+, співвідношення CD4+/CD8+, експресії мРНК рецепторів IL-1 β внаслідок катехоламінергічної стимуляції α 1- та β -адренорецепторів, які сприяють вивільненню цитокінів з імунних клітин, та зменшення стероїдних рецепторів нейронів паравентрикулярного ядра, синтезу IL-2, IL-6, IL-12, IL-18, IFN- γ , TNF- α , протизапального IL-10, IL-4 і IL-5 [84, 123, 143, 160, 162, 163, 166, 226, 296].

Вченими відзначено такі ефекти хронічного стресу: зниження кількості нейтрофілів, макрофагів, виділення гранул тканинних базофілів, CD4+ і CD8+ за рахунок активації апоптозу через зменшення співвідношення Bcl-2 до Bax і експресії каспаз-3, 9 і 1; CD8+-цитотоксичності, зниження продукції IgG і IgA, синтезу молекул адгезії, експресії CXCR4, співвідношення CD3+/CD4+ при збереженні рівня CD8+, порушення активації та проліферації Т-лімфоцитів і НК-клітин [88, 107, 166, 226, 275]. Через зменшення норадренергічної активності синьої плями і експресії тирозингідроксилази глюкокортикоїдами знижується синтез IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, IL-18, IL-23, TNF- α , IFN- γ , а рівні протизапальних IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 можуть підвищуватись, активність Th1 переключається на Th2 зі зростанням синтезу імуноглобулінів і утворення циркулюючих імунних комплексів [52, 59, 105, 160, 166, 169, 288, 313, 319, 320]. Але рівні прозапальних цитокінів можуть і підвищуватись [236].

В умовах хронічного стресу послаблюється інтенсивність гліколізу, зростає — β -окиснення жирних кислот, окисного фосфорилування, активність матриксних металопротеїназ MMP-2 і MMP-9, судинно-ендотеліального фактора росту (VEGF), глутамату, зменшується рівень серотоніну, нейротрофічного фактора мозку [150, 217, 312].

Зрушення цитокінового профілю визначається природою стресора, тривалістю та інтенсивністю дії: при іммобілізаційному стресі — збільшення експресії IL-6 у середньому мозку і зменшення у гіпоталамусі, тоді як активація

β 2-адренорецепторів при хронічному стресі обумовлює посилення продукції макрофагами і гліальними клітинами IL-6 і TNF- α , що залишаються високими і після 8 годин індукції стресу, ініціюючи функціонування гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової осі [154, 162, 288].

При гострому стресі знижується рівень прозапальних цитокінів, підвищується протизапальних через активацію симпато-адреналової системи, надалі зміни цитокінового профілю набувають протилежної динаміки через ефекти гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникової системи, але їх вираженість поступово зменшується внаслідок втрати інгібуючого впливу I-кВ, ацетилювання гістонів, наслідком чого стає стимулювання синтезу IL-1, IL-6, TNF- α [288].

Медична практика сучасного лікаря постійно перетинається з необхідністю надання допомоги пацієнтам з розвитком захворювань на фоні відчуття стресу, що заохочує вчених до більш досконалого вивчення його патогенезу задля пошуку нових, більш ефективних методів лікування захворювань, які поєднуються з даним адаптаційним синдромом [10, 11, 18, 19, 20].

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

У другому розділі дисертації висвітлені питання щодо характеристики і відбору тварин, їх розподіл на групи, експериментальні моделі хвороби, одержання гомогенатів легень у тварин, біохімічних, імунологічних і імуноферментних та статистичних методів дослідження. Також охарактеризовано досліджувані фармакологічні засоби, які були застосовані нами за умов розвитку ЕАА і ІС.

2.1 Опис експериментальних груп тварин

У дисертаційній роботі відповідно до мети і завдань дослідження були проведені та описані усі експериментальні, біохімічні, імунологічні та імуноферментні дослідження на морських свинках (самцях) через те, що вони є класичним об'єктом для вивчення і відтворення алергічних захворювань у тому числі експериментального алергічного альвеоліту (ЕАА) та іммобілізаційного стресу (ІС).

Були здійснені дослідження на 118 самцях морських свинок, що перебували у віварії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького в типових умовах. Маса тіла піддослідних тварин коливалась в межах 180-210 г.

Даний експеримент був проведений згідно з принципами біоетики у відповідності 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: № 07 від 26.10.2020 р., № 13 від 15.12.2023 р.).

З метою раціональної подачі одержаних даних і їх інтерпретації умовно виділяли ранній (1-а і 14-а доби експерименту) та пізній (24-а доба) періоди розвитку ЕАА і ІС. Відповідно до мети дослідження дисертаційної роботи морських свинок розподіляли на п'ять груп:

- перша група – (контроль) інтактні тварини (10);
- друга група – морські свинки з ЕАА, щодо яких не було застосовано жодних медикаментів, склалися з трьох підгруп, де на 1-у, 14-у і 24-у доби експерименту відповідно тварин було декапітовано (30);
- третя група – тварини з ІС, де не здійснювали введення медичних препаратів, включала з трьох підгруп, відповідно на 1-у, 14-у і 24-у доби експерименту кожна з яких було декапітовано (30);
- четверта група – морські свинки з ЕАА та ІС, де не використовували лікарські засоби, містила три підгрупи, кожна з яких відповідно на 1-у, 14-у і 24-у доби експерименту було декапітовано (30);
- п'ята група - морські свинки з ЕАА та ІС (18), виведені з експерименту на 24-у добу після попереднього застосування лікарських засобів, містила дві підгрупи: у першій — тіотриазолін (виробництва ПАТ «Галичфарм») вводили в/м у дозі 50 мг/кг щоденно в комбінації з корвітином (виробництво «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод») у дозі 40 мг/кг в/о 11 днів (з 14-ї по 24-у доби), а в другій підгрупі тваринам вводили корвітин в аналогічній дозі і термінах.

Були обрані закріплені доби для проведення експерименту і декапітації, що відповідали стадіям розвитку стресу: 1 доба – стадія тривоги, що триває до 4 діб; 14 доба – резистентності, яка розвивається з 5 по 14 доби; 24 доба – стадія виснаження, що виникає з 15 доби формування стресу та формування ЕАА шляхом імунізації (ведення повного ад'юванта Фрейнда і БЦЖ) тварин на 1-у,

14-у і 24-у доби. Для виведення тварин з експерименту було використано метод декапітації після попереднього в/о введення налбуфіну гідрохлориду (ТОВ «Юрія-Фарм», Україна) в дозуванні 182 мг/кг. Декапітували інтактні морські свинки і тварини на 1, 14, 24-у доби розвитку ЕАА та ІС під налбуфіновим наркозом і забирали кров, легені для біохімічних, імунологічних та імуноферментних досліджень.

2.2 Методика моделювання експериментального алергічного альвеоліту

Експериментальна постановка алергічного альвеоліту здійснювалось за методом О. О. Орехова, Ю. А. Кирилова [21], що полягав у внутрішньом'язовому введенні 0,2 мл повного ад'юванта Фрейнда (попередня імунізація) з наступним виконанням внутрішньовенної ін'єкції 0,2 мл 1% БЦЖ (бацили Кальмета-Жерена) на 14 та 24 доби дослідження у підгрупах тварин, що не були виведені з експерименту.

2.3 Методика постановки іммобілізаційного стресу

Модель експериментального іммобілізаційного стресу за методом Горизонтова П.Д., Белоусова О.И., Фетодова М.И. [6]. Експериментальний іммобілізаційний стрес відтворювали у морських свинок з використанням моделі Н. Selye - нервово-м'язового напруження (іммобілізація тварин на операційному столику на спині протягом 3 год.).

2.4. Одержання гомогенатів легень у морських свинок

Через 1-2 хв. після декапітації виконували висічення і забір шматочків тканини легень, які 5-6 хв. тримали на льоду, тоді кілька разів за допомогою голки з шприцом омивали до обезкровлення охолодженим фізіологічним розчином, з наступним подрібненням тканини легень на шматочки за допомогою ножиць, після чого її важили і клали у скляний гомогенізатор з тефлоновим пестиком (МРТУ-42 1505-63). Для запобігання перегрівання

впродовж гомогенізації тканини, яку проводили протягом 30-50с зі швидкістю обертання пестика 800-900 об./хв, виконуючи рухи склянкою вверх і вниз, склянку гомогенізатора утримували у мішечку зі шматками льоду. Для гомогенізації середовищем був охолодений 5 мМ трис-НСL буфер рН 7,4, з досягненням розбавлення гомогенату 1:9, фільтрування якого здійснювали через 2 шари марлі в пробірці для центрифугування, після чого центрифугували 10 хв при 3000 g ($t=0\pm 2$) для видалення не повністю зруйнованих клітин і ядер з отриманням щільної фракції. В експериментах було використано надосадову рідину [23].

2.5. Методи дослідження

Відповідно до мети і завдань дослідження були застосовані біохімічні та імунологічні та імуноферментні методи.

2.5.1 Біохімічні методи дослідження

Стан прооксидантно-антиоксидантної системи оцінювали за вмістом ДК, МДА та активністю СОД, КТ і ЦП при ЕАА та ІС.

2.5.1.1 Оцінка вмісту дієнових кон'югатів — метод Гаврилова В.Б., Мишкорудної М.І [5].

До 0,2 мл плазми крові або гомогенату тканини додавали 2,0 мл ізопропілового спирту і 2,0 мл гептану, 15 хв струшуючи з подальшим внесенням 1,0 мл розчину хлористоводневої кислоти (рН 2,0) і 2,0 мл гептану, струшуванням і за 30 хв після відстоювання та розшарування фаз, відбором верхнього гептанового шару. При довжині хвилі 233 нм відносно контрольного зразка, що являв собою 0,2 мл води, здійснено вимірювання оптичної густини верхнього гептанового шару: нмоль/мл (г).

2.5.1.2 Вимірювання малонового діальдегіду — метод Коробейникової Е.Н. [13].

Після додавання у пробірку 5,0 мл 20 % фосфорно-вольфрамової кислоти до 0,5 мл гомогенату легень і перемішування з поміщенням на 15 хвилин у холодильник, при температурі 4 °С ще впродовж 15 хвилин здійснювалось центрифугування частотою 2500 об./хв. і зливання надосадової рідини, вслід за чим до осаду, що залишився, добавлялося 1,0 мл 0,8 % розчину тіобарбітурової кислоти і 2,0 мл дистильованої води з акуратним перемішуванням та відстежуванням рН суміші. Незабаром при 100 °С було проведено інкубацію на водяній бані після герметичного закорковування протягом 1 години з подальшим охолодженням пробірок, і центрифугуванням з частотою 6000 об./хв. протягом 10 хвилин. Вимірювання оптичної густини здійснено за допомогою спектрофотометра СФ-46 при довжині хвилі 535-580 нм задля запобігання оптичного вбирання забарвлених комплексів тіобарбітурової кислоти сполуками неліпідного походження.

Обчислення виконано за формулою:

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

де C – концентрація МДА в нмоль/мл сироватки крові;

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

2.5.1.3 З'ясування активності супероксиддисмутази — метод Fried R. [131].

Змішували 1,2 мл 0,15 М фосфатного буфера (рН 7,8), 0,3 мл 0,61 мМ нітросинього тетразолію і 0,1 мл 0,16 мМ феназинметасульфату, після чого в суміш вносили 0,3 мл гомогенату тканини легень, ініціюючи реакцію додаванням 0,2 мл 1 мМ розчину НАДН + H^+ зі струшуванням 1 хвилину та припиненням реакції за участі 1,0 мл концентрованої оцтової кислоти. Оптичну густину визначали на спектрофотометрі СФ-46 за довжині хвилі 540 нм. Одиницею вимірювання активності СОД є у.о./мл (г).

2.5.1.4 З'ясування активності каталази проводили за методом Holmes R., Masters C. [157].

Змішували і струшували 1,9 мл 0,05 М фосфатного буферу (рН 8,0), 1,0 мл 30 мМ розчину пероксиду водню, 0,1 мл гомогенату тканини легень, після чого через 15 хв вимірювали в кюветі на спектрофотометрі СФ-46 оптичну густину з інтервалом 60 с за довжини оптичного шляху 10 мм відносно води. Одиниці вимірювання активності каталази: м.о./мл (г).

2.5.1.5 Встановлення вмісту церулоплазміну — метод В.Г. Колб, В.С. Камишніков [12]

Клали по 0,1 мл гомогенату легень в дві пробірки, після чого з метою інактивації церулоплазміну в контрольну пробірку поміщали 2 мл натрію фториду, додаючи в пробірки по 8 мл ацетатного буферу і 1 мл розчину р-фенілендіаміну (використовували як субстрат) з подальшим струшуванням і поміщенням впродовж 1 год на водяну баню за температури $+37^{\circ}\text{C}$, після чого всюди, крім контрольної пробірки, додавали і перемішували фтористий натрій по 2мл і ставили в холодильник при температурі $+4^{\circ}\text{C}$ на 30хв. В кюветі з шириною шару 10мм у ФЕК із зеленим світлофільтром (530 нм) виконували колориметрію з наступним порівнянням відносно даних контролю блідо-рожевого кольору. Шляхом вирахування добутку 875 на значення оптичної густини, обчислено концентрацію церулоплазміну в мг/л(г.).

Відхилення системи оксиду азоту в легенях оцінювали за показниками продуктів NO, аргініну і сумарної активності NO синтаз.

2.5.1.6 Визначення вільного аргініну за методом Алейникова Т.Л., Рубцова Г.В., Павлова Н.А. [8].

До 0,5 мл сироватки крові (0,5 мл гомогенату тканини) додавали 0,5 мл 5% розчину трихлороцтової кислоти (ТХО) і 10 хв центрифугували з частотою 3000 об./хв, після чого брали 0,5 мл супернатанту, змішували 0,05 мл

гіпобромідного реактиву, 0,05 мл 0,02% спиртового розчину α -нафтолу, 0,2 мл 10% розчину сечовини і 1 мл 5% розчину NaOH, доливаючи дистильовану воду до досягнення 4 мл, після чого на СФ–56 через 20 хв здійснювали спектрофотометрію при довжині хвилі 500 нм. відносно дистильованої води. Контроль включав такі реактиви, як дослід, але замість сироватки була дистильована вода. Концентрацію аргініну оцінювали за калібрувальним графіком.

2.5.1.7. Вимірювання стабільних продуктів оксиду азоту (нітрит- і нітрат-йонів) у біологічних рідинах за методом Schmidt H.H. [269]

У біологічних зразках рівень сумарних продуктів оксиду азоту оцінювали використовуючи реактив Грісса зі здійсненням спектрофотометрії при довжині хвиль $\lambda = 550$ нм продуктів фарбування, обчислюючи з одержаних значень оптичної густини середню величину та концентрацію стабільних продуктів оксиду азоту у гомогенаті легень за допомогою побудованої калібрувальної кривої.

Здійснення методу полягає в поміщенні у пробірку для центрифугування 0,2 мл досліджуваної проби і розчину їдконого натрію 0,2 мл 4 %, інкубуванні з перемішуванням 10 хв на бані з льодом, додаванні 1,2 мл 4 % сірчаноокислого цинку і 0,4 мл дистильованої води з подальшим утриманням 10 хв. на водяній бані з льодом, центрифугуванням з частотою 15000 об/хв. при температурі 0–+4 °C протягом 20 хв. Вносили до 1,4 мл відібраного супернатанту таку саму кількість реактиву Грісса (1:1) до складу якого входили: 1 % сульфанілової кислоти і 0,1 % N – нафтилетилендіаміну гідрохлориду на 5 % ортофосфорній кислоті, при чому така суміш зберігається до 12 годин. Одержану пробу поміщали в затемнене місце для розвитку забарвлення на 15 хв., з наступним визначенням екстинкції при $\lambda = 550$ нм спектрофотометром СФ–56. Контроль — 8 % оброблений за методикою досліджу білковий розчин. Обрахунок

виконували за калібрувальним графіком, одержаним стандартними розчинами із концентрацією сумарних метаболітів оксиду азоту від 1 до 250 мкмоль/л.

2.5.1.8 Визначення сумарної активності синтази оксиду азоту за методом Сумбаєва В.В., Ясинской В.В. [35].

Сумарну активність синтази оксиду азоту визначали за швидкістю вичерпання $\text{NADPH}\cdot\text{H}^+$ у середовищі з 0,6 мл 1 мМ MgCl_2 , 0,6 мл 5 мМ KH_2PO_4 , 0,6 мл 10 мМ CaCl_2 на Тріс- HCl буфері $\text{pH}=7,4$, 0,4 мл 1,0 мМ розчину $\text{NADPH}\cdot\text{H}^+$, 0,6 мл 4 мМ водного розчину L-аргініну, індукуючи реакцію 0,3 мл дослідного біоптату (гемолізат еритроцитів). У контрольній пробірці був такий самий набір реагентів, але замість L-аргініну — 0,6 мл дистильованої води. Реакцію було припинено внесенням до реакційної суміші 8 мМ р-ну HClO_4 . При довжині хвилі 340 нм фіксували зниження екстинкції розчинів, і активність синтази оксиду азоту оцінювали в нмоль $\text{NADPH}\cdot\text{H}^+$, який окиснювався за 1 хвилину на 1 мг білка.

Вираховування активності синтази оксиду азоту проводили за формулою:

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

де ΔE – середнє значення відхилення оптичної густини проби при довжині хвилі 340 нм за 1 хв;

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

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

a – концентрація білка в пробі, г/л;

b – кількість внесеного екстракту, мл.

2.5.2 Імунологічні та імуноферментні методи дослідження

Характер відхилень клітинного і гуморального імунітету при ЕАА і ІС визначали за змінами вмісту Т і В-лімфоцитів, ЦК, ФНП- α , ІЛ-6 і ІЛ-10 крові.

2.5.2.1 Оцінювання вмісту Т-лімфоцитів крові (Е-РОК) проводилось з застосуванням методики Чернушенко Е.Ф., Когосова Л.С [37]. Виділяли лімфоцити крові. Поміщаючи 2-3 мл крові у пробірки з гепарином (125 ОД/мл рідини), її розбавляли розчином Хенкса, забуференим тріс-буфером до рН 7,3 (або середовищем № 199) у 2 рази, далі на 1,5 мл філол-контрасної речовини нашаровували 2 мл розведеної крові, пробірки центрифугували при $+20^{\circ}\text{C}$ впродовж 30 хв з інтерфазною силою 400 г. Вимірювання радіусу центрифуги виконували від центра до стикання суміші філол-гіпак з кров'ю, а підрахунок обертів здійснювали застосовуючи нормограми. Наслідком центрифугування було осідання еритроцитів та гранулоцитів на дно з розташуванням у верхній частині мононуклеарних клітин, які було зібрано пастерівською піпеткою з інтерфазною поверхні і нижче. Суспензію розбавляли середовищем № 199 у 5 разів і подвійну відливали за 1500 об/хв протягом 10 хв, у камері Горяєва рахували кількість клітин, доводячи лімфоцити до 1 млн в 1 мл.

Для приготування суміші баранячих еритроцитів тричі промивали еритроцити забуференим середовищем № 199 або розчином Хенкса з отриманням прозорої надосадної рідини через повторне центрифугування 1500 об./хв 15-20 хв. і разове 2000 об./хв 10 хв.. З осаду еритроцитів, прийнятого за 100 %, готували 1 % їх суміш, розбавляли відносно лімфоцитів 1:30 (0,3-0,4 % суміші), забирали 0,2 мл суміші лімфоцитів, 0,2 мл (0,3-0,4 %) суміші еритроцитів, 0,1 мл сироватки великої рогатої худоби і 0,1 мл середовища № 199 або буферного розчину Хенкса у віддалевські пробірки, змішуючи і центрифугуючи 5 хв. при 1000 об./хв., далі розміщуючи при 37°C в термостат на 30 хв. і в холодильник на 18-20 хв., після чого здійснювали переведення клітин до суміші шляхом обережного переміщення пробірки між долонями, з наступним підрахунком клітин у камері Горяєва. Встановлювали

співвідношення у відсотках клітин, які зв'язали 3 і більше еритроцити серед 200 нарахованих лімфоцитів, враховуючи Т-клітини, які утворили розетки в процентних показниках (відносно усіх лімфоцитів).

2.5.2.2 Визначення вмісту В-лімфоцитів у крові. Для оцінювання вмісту В-лімфоцитів крові було застосовано методику Чернушенко Е.Ф., Когосова Л.С.[37]. Після дворазового відливання середовищем № 199 при 1000 об./хв протягом 5 хв. еритроцитів барана, у середовищі №199 готували 2,5 % суміш еритроцитів, до 2 мл якої додавали 2 мл кролячої гемолітичної сироватки в субгемолітичній дозі, з подальшим інкубуванням при температурі 37⁰ С 30 хв. і струшуванням кожні 5-7 хв. Далі еритроцити було двічі відмити при 1000 об./хв. впродовж 5 хв. середовищем №199, до осаду додано у розведенні 1:10 2 мл комплементу (свіжа мишача сироватка) і 2 мл середовища №199, проведено інкубацію при 37⁰ С тривалістю 30 хв., обробку комплементом і антитілами, тричі відмити при 1000 об./хв. впродовж 5 хв. середовищем №199 з наступним розведенням еритроцитів відносно лімфоцитів до концентрації 1:30 (0,3-0,4 суміші). Подальша реалізація методики виділення лімфоцитів, постановки реакції, підрахунку повністю відповідає постановці реакції Е-РОК.

2.5.2.3 Визначення імунних комплексів крові було виконано згідно з методикою Haskova V., Kaslik J., Math J., Matejckova M. [149], визначення циркулюючих імунних комплексів — за допомогою ПЕГІКЕМ-тесту.

Як відомо, поліетиленгліколь (ПЕГ), молекулярною масою 600, викликає неспецифічну агрегації ЦК, преципітацію середовища. В основі методу лежить преципітація ЦК: при застосуванні ПЕГ низької концентрації (2-3 %) преципітують тільки великі ЦК, при 6-8 % концентрації — ЦК великих і малих розмірів. Використано 3,5 % ПЕГ – для преципітації великих ЦК; 5,25 % – великих та середніх ЦК; 7 % – великих, середніх і малих ЦК.

На спектрофотометрі в кюветах 11 виміряно оптичну густина зразків за довжини хвилі 450 нм, результати виражено в одиницях оптичної щільності.

2.5.2.4 Вимірювання рівня цитокінів було виконано за допомогою твердофазного імуноферментного аналізу.

Визначення концентрації цитокінів ІЛ-6, ФНП- α , ІЛ-10 в сироватці крові визначали за допомогою твердофазного імуноферментного методу з використанням біотинстрептавідинової системи, що підвищує специфічність і чутливість імуноферментного методу. Застосовано набір реактивів для кількісного імуноферментного аналізу (ELISA) відповідного цитокіну виробництва «Diacclone» (Франція). Аналіз проведено згідно з інструкцією виробника.

Принцип методу полягає в тому, що один тип мишачих моноклональних антитіл до відповідного цитокіну, імобілізований на мікропланшетах, а інший тип — до незалежного епітопу молекули відповідного цитокіну, кон'югований з біотином. Індикаторний компонент — кон'югат стрептавідину і пероксидази хрому. Складовими системи: біотин — низькомолекулярний водорозчинний вітамін (молекулярна маса 224 Д) і стрептавідин (білок з молекулярною масою 60.000, ізольований з бактерії *Streptomyces avidinii*). Стрептавідин містить 4 спріднені центри до біотину — 1 молекула стрептавідину зв'язує 4 молекули біотину, посилюючи реакції для визначення низьких концентрацій цитокіну.

Мікропланшети, вкриті мишачими моноклональними антитілами до цитокіну, інкубували при кімнатній температурі з стандартними пробами, контролем та зразками сироваток мурчаків і з біотиновим моноклональним антитілом, специфічним до цитокіну. Після інкубації незв'язане біотинове антитіло відповідного цитокіну видаляли промиванням лунок мікропланшету, добавляли ензим (стрептавідин-пероксидазу) і при кімнатній температурі інкубували. Після інкубації і промивання мікропланшет для видалення незв'язаних частинок з проб добавляли розчин субстрату, реагуючий зі

зв'язаним ензимом, що обумовлювало виникнення забарвлення прямо пропорційної інтенсивності щодо концентрації цитокінів зразку, зупиняючи реакцію додаванням у лунки сірчаної кислоти. Абсорбцію оцінювали за допомогою імуноферментного аналізатора Stat Fax 303 спектрофотометрично при довжині хвилі 450 нм.

Концентрації у пробах розраховували через побудову графіка по калібровочній кривій залежності значень оптичної щільності від відомої концентрації цитокіну в калібровочних пробах. Якщо оптична щільність сироватки перевищувала аналогічну величину для стандарту з максимальною концентрацією, проводили повторний аналіз, розвівши зразок у 10 разів.

2.6 Статистичне опрацювання отриманих результатів

Цифрові результати підлягали статистичній обробці з обрахуванням середньої арифметичної (M), похибки середньої арифметичної (m), критерію Стьюдента "t", використовуючи засоби статистичного і графічного аналізу електронних таблиць Microsoft Excel пакету програм Microsoft Office

2.7. Характеристика досліджуваних фармакологічних засобів

2.7.1. Тіотриазолін і його характеристика

Тіотриазолін завдяки наявності тіолової групи, яка, конкуруючи з сульфгідрильними групами метіоніну та цистеїну, зв'язує електрони активних форм кисню, взаємодіючи з супероксид-радикалом, що супроводжується перетворенням сірки тіолових груп з двох- на чотиривалентну, пригнічує оксидантний стрес, появу активних форм кисню в ксантиноксидазній реакції і біохімічних реакціях енергозабезпечення мітохондрій, концентрацію супероксид-аніона та пероксинітриту, утворення малонового діальдегіду, дієнових кон'югатів, 8-гідроксигуаніну, нітротирозину, сульфоксидів, сульфонових груп білків, ліпопероксидів арахідонової кислоти, які через гуанілатциклазну реакцію спричиняють розслаблення гладких міоцитів стінок

судин, викликаючи сповільнення кровотоку через зниження загального периферичного опору [15, 16, 79, 93, 185].

Гальмуючи окисну інактивацію NF-κB, препарат посилює експресію red/oxi-чутливих генів, відповідальних за синтез супероксиддисмутази, циклооксигенази та 5-ліпоксигенази [3, 16, 17, 79]. Тіотриазолін зумовлює активацію глутатіонпероксидази, супероксиддисмутази, каталази, підвищення рівня відновленого глутатіону, що забезпечує нормалізацію регуляції red/oxi-механізмів експресії генів, передачу клітинних сигналів через рецепторно-іоноформний комплекс, пригнічуючи окисну модифікацію білків ферментів, рецепторів, іонних каналів, факторів транскрипції, економізує витрати неферментного антиоксиданта α-токоферолу, являється скавенджером кисню і оксиду азоту, що стає причиною мембраностабілізуючих властивостей даного лікарського засобу [15, 16, 17, 79, 93, 186].

Медикамент забезпечує регуляцію ангиогенезу через зростання експресії судинно-ендотеліального фактора росту (VEGF), щільності ендотеліоцитів, активності ендотеліальної синтази оксиду азоту (eNOS) паралельно з гальмуванням індукцибельної синтази оксиду азоту (iNOS), утворюючи нітрозотіольні комплекси з оксидом азоту, захищає від його перетворення на пероксинітрит при взаємодії з активними формами кисню [15, 16]. Препарат зменшує рівень тромбоксана, регулює експресію тканинного плазміногену [15].

Через запобігання необоротній інактивації NF-κB, тіотриазолін знижує експресію прозапальних IL-1β, IL-6, TNF-α, підвищує IFN-γ, IL-10, стабілізує мембрани гранулоцитів, викликає зростання фагоцитарної активності макрофагів, рівня Т-лімфоцитів, вмісту Т-супресорів, Т-хелперів і НК-клітин, спадання рівня В-лімфоцитів, продукції ними IgA, IgM, IgG, циркулюючих імунних комплексів [14, 15, 16, 79, 245, 246].

Тіотриазолін збільшує рівень мРНК, утилізацію вільних амінокислот, регенерацію епітелію, пригнічує мітохондріальний та цитоплазматичний шляхи апоптозу, зумовлюючи підвищення експресії білка теплового шоку HSP70, який

проти діє перетворенню прокаспази 9 в активну форму, викликає зростання вмісту протиапоптотичного білка Bcl-2, що запобігає виходу цитохрому С з мітохондрій і переміщенню фактора індукції апоптозу (AIF) в ядрі, індукує пригнічення TNF α -індукованого апоптозу, Fas- і TRAIL-опосередкованого апоптозу, а через запобігання нагромадження окисненого тіоредоксину послаблює індукцію апоптозу пригніченням мітоген-активованого протеїнкіназного (МАРК) каскаду проапоптотичної системи JNK-кіназ [3, 15, 79]. Фармакологічний препарат нормалізує функціонування ферментів циклу Кребса, дихального ланцюга мітохондрій, сприяє збереженню заряду мітохондріальних мембран, регулює швидкість відкриття циклоспорин-А-залежної пори, обмежує анаеробний гліколіз, стимулює лактатдегідрогеназу в напрямку перетворення лактату в піруват, активує малат-аспартатний шунт, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназу, цитохром-С-оксидазу, утилізацію глюкози, глікогену, вільних жирних кислот, обумовлює зростання концентрації пірувату, сукцинату, малату та ізоцитрату, співвідношення НАД/НАДН [242, 273, 314].

Дія тіотриазоліну призводить до підвищенні порогу чутливості NMDA-глутаматних рецепторів, концентрації ГАМК, зменшення чутливості клітин до дії катехоламінів, запобігання окисній модифікації білків рецепторно-іоноформних комплексів, що попереджує десенситизацію ГАМК-, адрено- та естрогенових рецепторів [15, 34, 185].

Тіотриазолін володіє цитопротективним ефектом, що проявляється спаданням концентрації аланін- і аспартатамінотрансфераз у сироватці крові, пригнічує активність матриксної металопротеїнази-8 (ММР-8), що запобігає розщепленню колагену позаклітинного матриксу, базальних мембран судин, характеризується мембранопротекторними властивостями у зв'язку з захистом фосфоліпідів мембран клітин і органел від вільнорадикального окиснення, підтримкою рівня порогової чутливості рецепторів клітинних мембран [3, 7, 79]. Загалом, всі вищевказані ефекти лікарського препарату у клінічній практиці проявляються протиішемічними, імуномодулюючими, гепато-, кардіо- та

нейропротекторними властивостями, спонукаючи вчених до подальшого глибшого їх пізнання.

2.7.2. Корвітин і його характеристика

Кверцетин (Корвітин), який містить три бензольних кільця і п'ять ОН-груп у положеннях 3, 3', 5, 7 і 4', подвійний зв'язок між 2 та 3 атомами вуглецю, карбонільну групу четвертого атома вуглецю, і завдяки біохімічній структурі є найефективнішим флавоноїдом-поглиначем вільних радикалів [79, 115, 144, 314]. Катехолова група кільця В і група ОН в положенні 3 кільця А забезпечує поглинання гідроксильних радикалів та супероксид-аніона [115].

Препарат зумовлює підвищення експресії глутатіонтрансферази, необхідної для відновлення глутатіону, та альдокеторедуктази, що забезпечує відновлення фенолів і альдегідів до спиртів у структурі простагландинів, зменшуючи вираженість прозапальних ефектів [314]. Кверцетин зменшує вираженість Fe^{2+} -індукованого перекисного окислення ліпідів через зв'язування Fe^{2+} , і є єдиним біофлавоноїдом, знешкоджуючим пероксид водню [136, 314].

Завдяки експресії генів, пов'язаних із сигнальними шляхами РІЗК/РКВ, кверцетин підвищує експресію Cu/Zn-вмісної супероксиддисмутази, Mn-вмісної супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази, глутатіону, глутатіон-S-трансфераза, гемоксигенази-1, яка здійснює свої захисні властивості пригніченню NF-κB, зумовлює зменшення вмісту малонового діальдегіду і дієнових кон'югатів у тканинах [58, 68, 115, 136, 190, 273, 311, 314].

Місцевий захист клітин головного мозку від вільнорадикального окиснення здійснюється за рахунок експресії параоксонази 2 (PNO₂), яка, функціонуючи в мітохондріях нейронів та клітин астроглії, сприяє зменшенню пошкоджень нейронів, поряд зі зростанням експресії глутатіонсинтетази і глутамат-цистеїнової лігази [47]. Однак за високих концентрацій визначались

прооксидантні властивості корвітину через інтенсифікацію клітинного дихання в мітохондріях і полегшення умов для вивільнення супероксид-аніону [115].

Кверцетин регулює експресію генів цитокінів, молекул адгезії, ферментів, що забезпечують продукування медіаторів запалення, ферментів антиоксидантних систем, рецепторів андрогенів (AR), протеїнкінази В (АКТ), рецептора інсуліноподібного фактора росту 1 (IGFIR), судинно-ендотеліального фактора росту (VEGF), про- і антиапоптотичні білків [68].

Лікарський засіб реалізує свої ефекти через модулювання функціонування клітинних сигнальних шляхів: тирозинкіназного, протеїнкінази С, мітоген-активованої протеїнкінази, фосфоінозитид-3-кінази, NF-κB [242]. Кверцетин індукує зупинку клітинного циклу в фазі G2 та G0/G1, фазові зміни G0/G1, що пов'язано зі зниженням експресії циклінів E і D, білка циклінзалежної кінази-2 (Cdk-2), який забезпечує перехід з G1 в S-фазу клітинного поділу, внаслідок чого можлива зупинка клітинного поділу в G1; підвищеною експресією p21 (внутрішньоклітинний інгібітор циклін-залежної кінази-1A) і p27 (інгібітор циклін-залежної кінази-1B), що здійснюють зупинку клітинного поділу у фазі G1; регуляцією шляхів, пов'язаних із p53, що сприяє зупинці клітинного поділу та послаблення експресії генів білків родини Bcl-2; пригнічує шлях фосфоінозитид-3-кінази мішені рапаміцину PI3K/АКТ/mTOR з інгібуванням p70 S6 кінази, що призводить до супресії трансляції мРНК і зупинки клітинного поділу в G1; а також пригнічення шляху STAT3, що обумовлює зупинку клітинного циклу в стадії G2/M, зменшує диференціювання наївних CD4⁺ в Т-хелпери Th17, чутливість до ІЛ-6 [56, 136, 304, 311, 314]. Дані зрушення проявляються пригніченням проліферативної здатності клітин, отже — протипухлинних властивостей лікарського засобу, які також можна пояснити ініціюванням апоптозу через вказані особливості регуляції сигнальних шляхів.

Зниження фосфорилування STAT3, NF-κB і Akt відіграють роль у реалізації фармакологічних ефектів даного флавоноїда: поряд з ефектом протеїнкінази С, що регулює клітинний ріст та диференціювання, обумовлюють пригнічення

проліферації та диференціювання, запуск апоптозу, що дозволяє застосовувати Корвітин як допоміжний засіб лікування онкозахворювань, зменшенні ураження тканин при запаленні через перепрограмування загибелі клітини зі шляху некрозу на шлях апоптозу [311].

Кверцетин посилює експресію генів каспаз -3 і -9, проапоптотичних білків Bak, Bax, Bad, Bid, Bim, Noxa та Puma, паралельно послаблюючи експресію антиапоптотичних білків Bcl-2, Bcl-x1, Mcl-1, виходу цитохрому C з мітохондрій у цитоплазму з наступною активацією каспаз, хоча вказувалось і про зменшення експресії Bax та посилення експресії Bcl-2, що можна пояснити кверцетин-залежною індукцією фосфорилування протеїнкінази- Ba як важливого компонента фосфатидилінозитол-3-кіназного шляху, що призводить до підвищення експресії Bcl-2 поряд зі зменшенням Bax [58, 136, 311].

На сьогодні відомо, що активація шляхів Toll-подібного рецептора (TLR) сприяє виробленню прозапальних цитокінів через посилення регуляції факторів транскрипції, таких як NF- κ B та активований білок 1 (AP-1), а інгібування кверцетином I- κ B-фосфорилування, транслокації NF- κ B і AP-1 обумовлює інактивацію TNF- α -залежного механізму розвитку апоптозу через пригнічення транскрипції генів Bcl-2, Bax, каспази-3 [95, 136, 267].

Вплив корвітину на функціонування сигнальних шляхів може проявляти себе стосовно ферментів, молекул і біологічно активних речовин, що відіграють роль в алергії, запаленні та інших імунозалежних процесах наступним чином: а) блокування шляху мітоген-активованої протеїнкінази і NF- κ B, зокрема — пригнічення сигнального шляху TLR4/NF- κ B флавоноїдом, стає тригером його протизапальної дії через пригнічення вироблення прозапальних TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, IL-18, MCP-1, MIP-1 α , лімфопоетину стромі тимуса; б) взаємодія з сигнальними шляхами протеїнкінази C, NF- κ B і тирозинкінази має пригнічуючий ефект щодо експресії генів циклооксигенази-2 (COX-2), 5-ліпоксигенази (LOX), фосфоліпази A2, викликаючи зменшення утворення ейкозаноїдів, що було зафіксовано у вигляді зниження концентрації

простагландину I₂, лейкотрієна B₄ і C₃, тромбоксану A₂; в) викликає послаблення активності індукцибельної синтази оксиду азоту (iNOS) через сигнальний шлях p38MAPK/iNOS, через надмірну активацію якої є ризик гіперпродукції активних форм NO та нітрозивного стресу; г) обумовлює зменшення експресії генів молекул адгезії ICAM-1, VCAM-1, P- і E-селектинів ендотеліоцитів внаслідок спадання активності NF-κB і AP-1 [3, 16, 17, 47, 56, 58, 68, 95, 136, 144, 159, 177, 190, 205, 242, 245, 246, 267, 273, 304, 311, 314].

Флавоноїд підвищує вміст кальцію в цитоплазмі, запобігаючи реалізації кальцієвих механізмів пошкодження клітини, за рахунок інгібування припливу кальцію та фосфопротеїнкінази C протидіє вивільненню гранул тканинних базофілів, зокрема гістаміну та триптази, інгібує індуковану тромбіном агрегацію тромбоцитів шляхом порушення секреції серотоніну і мобілізації кальцію, зниження наростання його цитоплазматичної концентрації, стимуляції фосфоліпази A₂ та подальшої реалізації циклооксигеназного шляху синтезу тромбоксану, викликає супресію експресії GPIIb/IIIa в тромбоцитах [68, 190, 273, 314].

Корвітин нормалізує передачу нервових імпульсів, пам'ять і когнітивні процеси завдяки запобіганню деградації ацетилхоліну шляхом інгібуванню бутирилхолінестерази (BchE), ацетилхолінестерази (AChE) і секретазі, пригнічує експресію генів ксантиноксидази, аланінамінотрансферази, лактатдегідрогенази, глюкозо-6-фосфатази, НАДН-оксидази, матриксних металопротеїназ (MMP-2, MMP-9), білків теплового шоку HSP70, HSP27, HSF-1, підвищуючи експресію генів глюкокінази [58, 68, 136, 144, 273, 311].

Противірусні властивості пояснюються стимулюванням експресії генів інтерферону-γ (IFN-γ) Т-хелперами 1 типу, пригніченням вірусної полімерази, зворотньої транскриптази, протеази, ДНК-гірази, зв'язуванням з білками вірусного капсиду, пригніченням росту бактерій: *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Proteus* і *Aspergillus flavus*, *Clostridium neospora*, *Candida albicans* [68, 115, 314].

Окрім ефективного зменшення вироблення прозапальних цитокінів та хемокінів, яке базується на послабленні активації NF-κB, дія препарату щодо імунної відповіді включає: зменшення макрофагальної інфільтрації, експресії молекул головного комплексу гістосумісності (МНС) класу II, антигенспецифічної активації Т-клітин, активації комплементу, продукції гістаміну та дегрануляції базофілів, адгезії лейкоцитів, проліферації CD4+, Th-2 і їх цитокінів (IL-4, IL-5, IL-13), активності Т-цитотоксичних клітин, вивільнення IgE, IgG1 В-клітинами, підвищуючи генерацію регуляторних Т-клітин [159, 177, 190, 205, 242, 267, 322].

Таким чином, корвітин, модулюючи властивості клітинної і гуморальної імунної відповіді, зменшуючи інтенсивність перекисного окислення ліпідів, утворення молекул адгезії, медіаторів запалення, агрегації тромбоцитів і проникності судинної стінки [313], постає як лікарський засіб, що потребує подальшого вивчення ефективності стосовно лікування захворювань, в основі патогенезу яких лежать такі патологічні процеси як алергія і/або запалення.

РОЗДІЛ 3

ОСОБЛИВОСТІ ЗМІН ІМУННОЇ СИСТЕМИ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛЕРГІЧНОГО АЛЬВЕОЛІТУ І ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ ТА КОРЕКЦІЯ ЙОГО ПОРУШЕНЬ КОРВІТИНОМ І ТІОТРИАЗОЛІНОМ

Нині відомо, що Т- і В-лімфоцити є основними клітинами імунної системи, що здатні забезпечувати захист організму від чужорідних антигенів різними шляхами, залежно від характеру і структури агента носія антигена і його локалізації: так, вільно розташовані в тканинах або крові антигени знешкоджуються завдяки продукції антитіл В-лімфоцитами, в крайньому своєму прояві спричиняючи розвиток реакцій гіперчутливості перших трьох типів за Джеллом та Кумбсом, тоді як Т-лімфоцити реалізують клітинний імунітет у відповідь на антигени, що не знешкоджуються системою мононуклеарних фагоцитів та ті, що знаходяться всередині клітини, за рахунок цитокіногенезу або як Т-цитотоксичні клітини, що в граничній мірі переходить у IV тип алергічних реакцій за Джеллом та Кумбсом [1, 45, 250, 295].

Т і В-лімфоцити як ключові структурно-функціональні компоненти імунної системи відрізняються за характером розпізнавання антигенів і здійснення своїх ефекторних функцій, і саме від її адаптаційної спроможності залежить адекватність реагування організму на генетично чужорідні агенти та ризик формування алергічних, запальних і аутоімунних захворювань.

Тому метою даного дослідження було встановлення властивих змін маркерів імунітету окремо при ЕАА і в поєднанні з ІС без і з застосуванням тіотриазоліну і корвітину.

Результати досліджень третього розділу дисертації висвітлені в 12 таблицях (3.1 – 3.12) і 4 рисунках (3.1 – 3.4).

3.1. Роль імунної системи у формуванні експериментального алергічного альвеоліту

У даному підрозділі метою було встановлення при експериментальному алергічному альвеоліті в крові на 1-у, 14-у і 24-у доби характеру відхилень маркерів імунної системи (Т і В-лімфоцитів, ЦК). Вимірювання Т-лімфоцитів у крові на 1-у добу моделювання ЕАА дозволило зафіксувати його приблизно в межах групи інтактних тварин (табл. 3.1., рис. 3.1) [24].

Трохи пізніше — на 14-у і 24-у доби ЕАА, відзначено зменшення відповідно на 27,7% і 31,7% ($P < 0,05$) відносно групи інтактних морських свинок Т-лімфоцитів крові (табл.3.1; рис. 3.1) [24].

Одержані результати досліджень підкреслюють, що ЕАА в ході експерименту викликає поетапне пригнічення клітинної ланки імунітету, домінуюче на 14-у і 24-у доби.

На початку відтворення ЕАА, приміром на 1-у добу експерименту, не спостерігалось достовірних змін щодо концентрації В-лімфоцитів крові проти контролю (табл.3.2; рис. 3.1) [24].

Таблиця 3.1. - Вміст Т-лімфоцитів у крові тварин при ЕАА ($M \pm m$)

Група дослідних тварин	Термін від початку моделювання АА в добах	Кількість піддослідних тварин	Т-лімфоцити в %
Інтактні морські свинки	Контроль	10	47,2±3,2
Тварини з ЕАА	1-а доба	10	47,7±3,2 $P > 0,05$
	14-а доба	10	34,1±2,6 $P < 0,05$
	24-а доба	10	32,2±2,3 $P < 0,05$

Примітка. Р — достовірність різниці значень параметрів при ЕАА порівняно з показниками групи інтактних тварин

У більш віддалені терміни експериментального моделювання, АА супроводжувався помітними відхиленнями вмісту В-лімфоцитів крові відносно першої групи морських свинок: на 14-у добу ЕАА — збільшення на 19,8% ($P < 0,05$) (табл.3.2; рис. 3.1), а на 24-у добу постановки ЕАА у крові відзначено подальше зростання В-лімфоцитів на 27,1% ($P < 0,05$) (табл.3.2; рис. 3.1) [24].

Таблиця 3.2. - Рівень В-лімфоцитів у крові морських свинок при ЕАА ($M \pm m$)

Група дослідних тварин	Термін від початку моделювання АА в добах	Кількість піддослідних тварин	В-лімфоцити в %
Інтактні морські свинки	Контроль	10	15,1±1,5
Тварини з ЕАА	1-а доба	10	15,2±1,5 $P > 0,05$
	14-а доба	10	18,1±1,6 $P < 0,05$
	24-а доба	10	19,2±1,7 $P < 0,05$

Примітка. Р — достовірність різниці значень параметрів при ЕАА порівняно з показниками групи інтактних тварин

Таблиця 3.3. - ЦіК в крові в динаміці розвитку ЕАА ($M \pm m$)

Група дослідних тварин	Термін від початку моделювання АА в добах	Кількість піддослідних тварин	ЦіК в од. опт. щ.
Інтактні морські свинки	Контроль	10	38,4±1,8
Тварини з ЕАА	1-а доба	10	49,7±2,1 $P < 0,05$
	14-а доба	10	52,6±2,2 $P < 0,05$
	24-а доба	10	54,1±2,3 $P < 0,05$

Примітка. Р — достовірність різниці значень параметрів при ЕАА порівняно з показниками групи інтактних тварин

Для характеристики гуморального імунітету, окрім дослідження рівня В-лімфоцитів, при ЕАА у крові визначали рівень загальних циркулюючих імунних комплексів. За умов постановки ЕАА встановлено безперервне підвищення ЦІК крові на 1-у, 14-у і 24-у доби відносно контрольних величин відповідно на 29,4%, 36,9%, 40,8% ($P < 0,05$), що свідчило про участь одного з важливих імунокомплексних механізмів (ІІІ тип) пошкодження клітин в патогенезі алергічного альвеоліту (табл.3.3; рис. 3.1) [24].

Отже, проведене вивчення маркерів імунного гомеостазу в крові в ході формування ЕАА показало суттєві порушення відносно показників контрольної групи, особливо на 14-у і 24-у доби, у вигляді прогресуючого наростання В-лімфоцитів і ЦІК, консолідовано зі зменшенням Т-лімфоцитів.

%

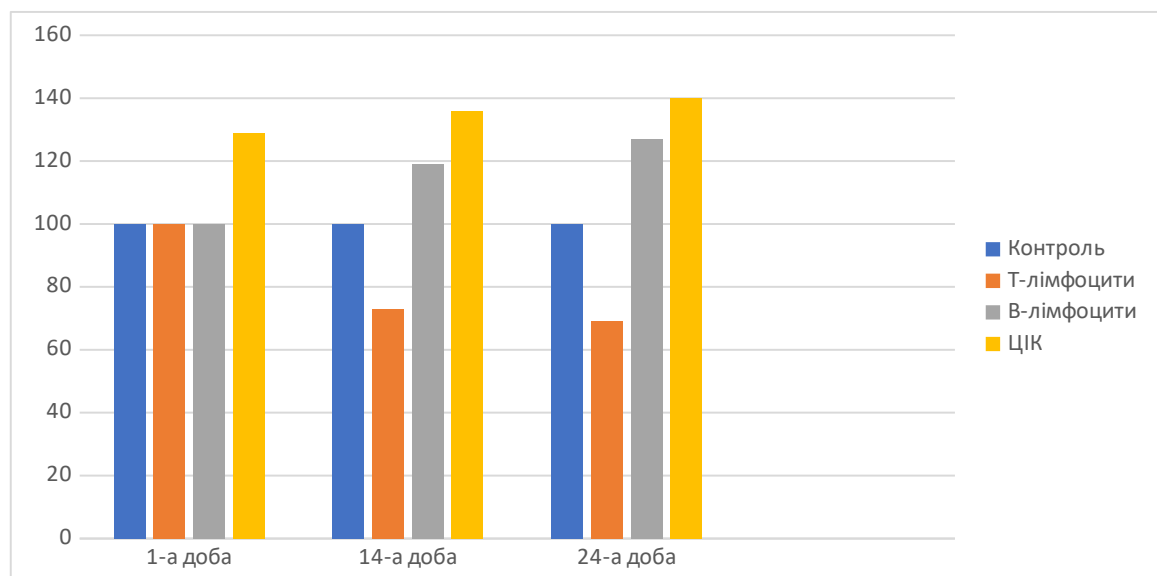


Рисунок 3.1. - Стан імунної системи при ЕАА (% від контролю).

Отже, результати експериментів продемонстрували, що, незважаючи на те, що на початку експерименту (1-а доба) не було зафіксовано жодних суттєвих відхилень проти значень групи інтактних тварин Т і В-лімфоцитів, наслідком модифікацій функціонування імунної системи при ЕАА стало зниження клітинного імунітету погоджено з посиленням гуморального, що проявлялось підвищенням відповідних показників (В-лімфоцити і ЦІК). Вказані зрушення сильнішали, сягаючи найвищих значень на 24-у добу експерименту.

3.2 Зрушення імунного статусу за умов розвитку іммобілізаційного стресу

На 1-у, 14-у і 24-у доби експериментальної постановки іммобілізаційного стресу в ході експерименту було зауважено відхилення Т-, В-лімфоцитів і ЦК. Доби досліджень відповідали стадіям перебігу стресу – тривоги, резистентності і виснаження. У крові відносно даних першої групи тварин у 1-у, 14-у і 24-у доби розвитку ІС відповідно було зафіксовано зменшення вмісту Т-лімфоцитів на 30,7%, 28,8%, 29,8% ($P < 0,05$), (табл.3.4; рис. 3.2) [24].

Отримані результати досліджень дозволяють засвідчити формування ознак клітинного імунодефіциту при ІС, найбільш вираженого на 1-у добу експерименту.

Таблиця 3.4. - Рівень Т-лімфоцитів у крові тварин при ІС ($M \pm m$)

Група дослідних тварин	Термін після моделювання ІС в добах	Кількість піддослідних тварин	Т-лімфоцити в %
Інтактні морські свинки	Контроль	10	47,2±3,2
Тварини з ІС	1-а доба	10	32,7±2,3 $P < 0,05$
	14-а доба	10	33,6±2,3 $P < 0,05$
	24-а доба	10	33,1±2,3 $P < 0,05$

Примітка. Р — достовірність різниці значень параметрів при ІС порівняно з показниками групи інтактних тварин

Визначення іншого показника, за яким характеризували ступінь порушень гуморального імунітету, був рівень В-лімфоцитів при ІС. На усіх строках (1-а, 14-а, 24-а доба) розвитку ІС спостерігалися властиві ознаки посилення гуморального імунітету, що було показано збільшенням проти групи інтактних тварин В-лімфоцитів відповідно на 25,1%, 19,2%, 15,2% ($P < 0,05$) (табл.3.5; рис. 3.2) [24]. Це є безпосереднім підтвердженням участі в патогенезі стресу В-клітин як ефektorів гуморальної частини імунітету.

Таблиця 3.5. - Вміст В-лімфоцитів у крові морських свинок при ІС ($M \pm m$)

Група дослідних тварин	Термін після моделювання ІС в добах	Кількість піддослідних тварин	В-лімфоцити в %
Інтактні морські свинки	Контроль	10	15,1±1,5
Тварини з ІС	1-а доба	10	18,9±1,6 P<0,05
	14-а доба	10	18,0±1,6 P<0,05
	24-а доба	10	17,4±1,5 P<0,05

Примітка. P — достовірність різниці значень параметрів при ІС порівняно з показниками групи інтактних тварин

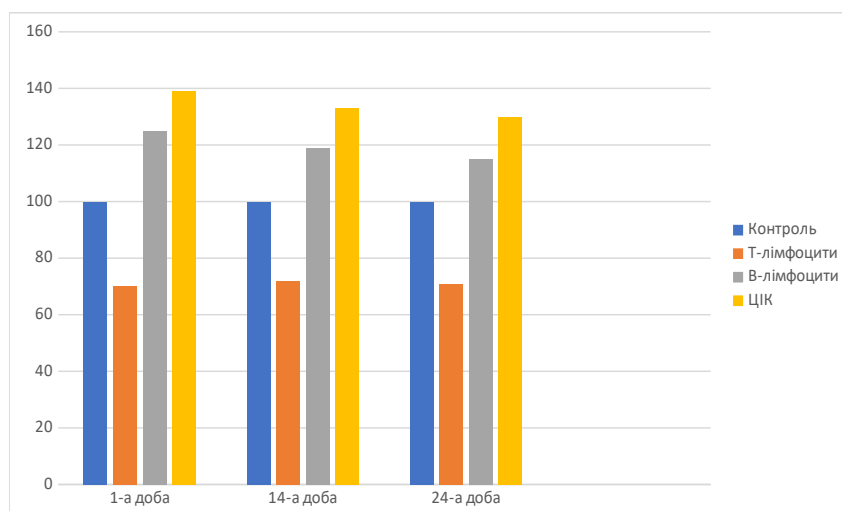


Рисунок 3.2. - Стан імунної системи при ІС (% від контролю)

Важливе значення для характеристики патогенезу ІС мають визначення ЦІК в крові. Встановлено, що в динаміці ІС (1-а, 14-а, 24-а доби) відбувалося постійне підвищення вмісту ЦІК в крові відповідно на 39,5%, 33,8%, 30,4% ($P < 0,05$) в порівнянні з першою групою тварин (табл.3.6; рис. 3.2) [24].

Таблиця 3.6. - Концентрація ЦК в крові при ІС ($M \pm m$)

Група дослідних тварин	Термін після моделювання ІС в добах	Кількість піддослідних тварин	ЦК в од. опт. щ.
Інтактні морські свинки	Контроль	10	38,4±1,8
Тварини з ІС	1-а доба	10	53,6±2,3 P<0,05
	14-а доба	10	51,4±2,2 P<0,05
	24-а доба	10	50,1±2,2 P<0,05

Примітка. P — достовірність різниці значень параметрів при ІС порівняно з показниками групи інтактних тварин

Отже, підсумовуючи отримані результати, можна констатувати, що ІС спричиняє суттєві порушення імунного гомеостазу, які проявлялися пригніченням клітинного в умовах індукції гуморального імунітету з особливою перевагою на 1-у добу експерименту відносно показників контрольної групи тварин.

3.3. Зміни з боку імунної системи при поєднанні ЕАА і ІС

У літературних джерелах підтверджено факт існування змін імунної системи при прогресуванні як окремих хвороб, для прикладу — ЕАА, так і при стресі, проте в поєднанні алергічного альвеоліту з іммобілізаційним стресом такі зрушення не з'ясовані, через що метою даного підрозділу було вивчення характерних рис порушень маркерів імунного гомеостазу на 1-у, 14-у і 24-у доби експерименту за умов суміщення ЕАА з ІС [2, 9-11, 18-20, 22, 24-33, 36, 244, 245, 246, 247].

Було відзначено, що сполучення ЕАА та ІС викликають помітні зрушення клітинного і гуморального імунітету, а саме встановлено з перших діб нашого спостереження і надалі (1-а, 14-а і 24-а доби), що ЕАА і ІС супроводжується

суттєвим послідовним зниженням проти контролю у крові Т-лімфоцитів відповідно на 33,4%, 36,2%, 39,6% ($P < 0,05$) (табл. 3.7; рис. 3.3) [24].

Таблиця 3.7. - Рівень Т-лімфоцитів у крові тварин при ЕАА та ІС ($M \pm m$)

Група дослідних тварин	Термін поєднаного моделювання ЕАА і ІС в добах	Кількість піддослідних тварин	Т-лімфоцити в %
Інтактні морські свинки	Контроль	10	47,2±3,2
Тварини з ЕАА та ІС	1-а доба	10	31,4±2,2 $P < 0,05$
	14-а доба	10	30,1±2,2 $P < 0,05$
	24-а доба	10	28,5±2,1 $P < 0,05$

Примітка. P — достовірність різниці значень параметрів при ЕАА та ІС порівняно з показниками групи інтактних тварин

Таблиця 3.8. - Вміст В-лімфоцитів у крові морських свинок при ЕАА та ІС ($M \pm m$)

Група дослідних тварин	Термін поєднаного моделювання ЕАА і ІС в добах	Кількість піддослідних тварин	В-лімфоцити в %
Інтактні морські свинки	Контроль	10	15,1±1,5
Тварини з ЕАА та ІС	1-а доба	10	19,3±1,7 $P < 0,05$
	14-а доба	10	19,8±1,7 $P < 0,05$
	24-а доба	10	21,8±1,8 $P < 0,05$

Примітка. P — достовірність різниці значень параметрів при ЕАА та ІС порівняно з показниками групи інтактних тварин

Було зауважено при ЕАА і ІС в крові порівняно з інтактними тваринами постадійне зростання В-лімфоцитів (1-а, 14-а і 24-а доби) відповідно на 27,8%,

31,1%, 44,3% ($P<0,05$) (табл. 3.8; рис. 3.3), що свідчить про ініціацію гуморального імунітету, переважаючи на 24-у добу експерименту [24].

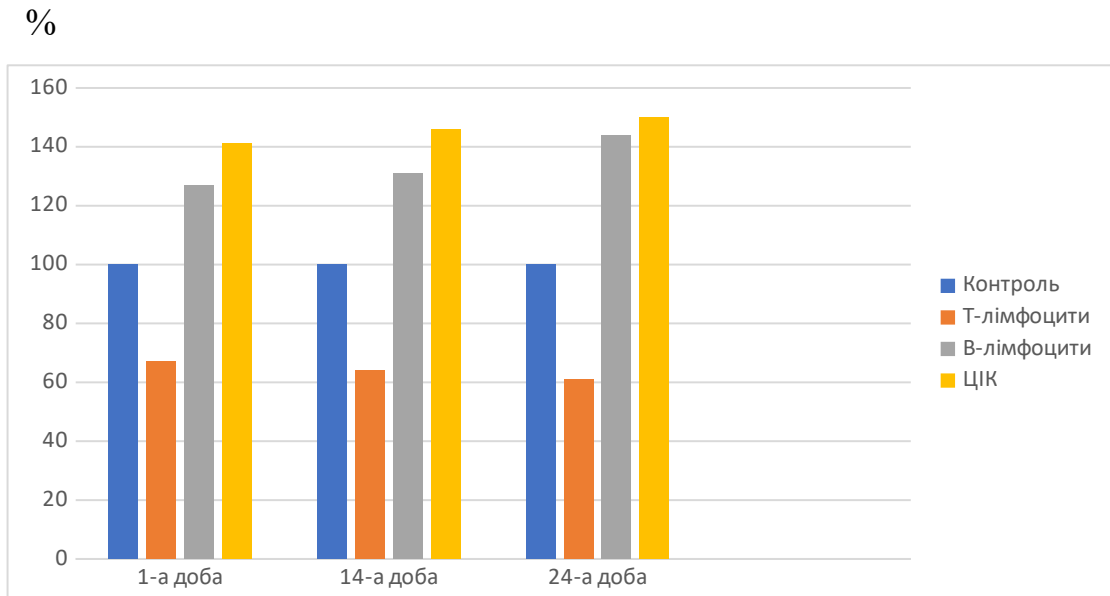


Рисунок 3.3. - Стан імунної системи при ЕАА і ІС (% від контролю).

Таблиця 3.9. - Рівень ЦІК в крові при ЕАА та ІС ($M\pm m$)

Група дослідних тварин	Термін поєданого моделювання ЕАА і ІС в добах	Кількість піддослідних тварин	ЦІК в од. опт. щ.
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$38,4\pm 1,8$
Тварини з ЕАА та ІС	1-а доба	10	$54,2\pm 2,3$ $P<0,05$
	14-а доба	10	$56,3\pm 2,3$ $P<0,05$
	24-а доба	10	$57,9\pm 2,4$ $P<0,05$

Примітка. P — достовірність різниці значень параметрів при ЕАА та ІС порівняно з показниками групи інтактних тварин

Визначення загальних ЦК в крові в процесі прогресування ЕАА з ІС характеризується їх поступовим зростанням відносно першої групи тварин відповідно (на 1-у, 14-у і 24-у доби) на 41,1%, 46,6%, 50,7% ($P < 0,05$) (табл. 3.9; рис. 3.3) [24].

Одержані результати досліджень дають підставу констатувати факт виявлення вищеописаних змін зазначених показників в напрямку превалювання гуморального імунітету, доцільності їх визначення в крові та встановлення їх важливої ролі в ході патогенезу ЕАА і ІС.

3.4.Коригуючий вплив корвітину та тіотриазоліну на порушені маркери імунної системи при ЕАА і ІС

Як видно з попереднього підрозділу дисертаційної роботи, ЕАА в сполученні з ІС супроводжується розладами з боку імунної системи, зокрема помітним підвищенням маркерів гуморальної ланки імунітету в умовах суттєвої депресії клітинного імунітету без введення лікарських засобів.

Відомо з літератури, що тіотриазолін виявляє антиоксидантні, протизапальні, антигіпоксанти властивості, корвітин — мембраностабілізуючі, протизапальні, і обидва з них — імуномодулюючий ефект [15, 47, 56, 58, 68, 79, 95, 115, 136, 144, 159, 177, 186, 190, 205, 242, 267, 273, 304, 311, 314, 322]. Виходячи з наведеного, за умов ЕАА і ІС було доцільним застосування цих препаратів разом [2, 10, 11, 18, 19, 20, 32, 33, 246, 247, 248].

Використання консолідованого впливу корвітину і тіотриазоліну призводило до підвищення у крові проти групи тварин з ЕАА та ІС на 24-у добу без корекції Т-лімфоцитів на 40,0% ($P < 0,05$), а у випадку ізольованого введення корвітину — лише на 30,1% ($P < 0,05$), що дозволяє визнати їх імунокоригуючу дію (табл. 3.10; рис. 3.4) [24].

Показано, що консолідований вплив двох лікарських препаратів — корвітину і тіотриазоліну при ЕАА і ІС відносно групи морських свинок з ЕАА і ІС на 24-у добу експерименту без застосування будь-яких ліків у крові

зумовлює зниження В-лімфоцитів на 24,3% ($P<0,05$) і ЦІК — на 26,0% ($P<0,05$), а у разі окремого введення корвітину — зменшення вищевказаних параметрів відповідно на 17,4% і 15,1% ($P<0,05$) (табл. 3.10; 3.12; рис. 3.4) [24].

Таблиця 3.10. - Вплив корвітину та тіотриазоліну на вміст Т-лімфоцитів у крові при ЕАА та ІС ($M\pm m$)

Підгрупа дослідних тварин	Термін поєданого моделювання ЕАА і ІС в добах	Кількість піддослідних тварин	Т-лімфоцити в %
Інтактні морські свинки	Контроль	10	47,2±3,2
Тварини з ЕАА та ІС без застосування лікарських засобів	24-а доба	10	28,5±2,1 $P<0,05$
Тварини з ЕАА та ІС після після ін'єкцій тіотриазоліну і корвітину	24-а доба	10	39,9±2,7 $P_1<0,05$
Тварини з ЕАА та ІС після ін'єкцій корвітину	24-а доба	8	37,1±2,6 $P_2<0,05$

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

Примітка 2. p_1 – достовірність різниці при порівнянні показників до та після лікування корвітином і тіотриазоліном (на 24-у добу ІС і ЕАА).

Примітка 3. p_2 – достовірність різниці при порівнянні показників до та після лікування корвітином (на 24-у добу ІС і ЕАА).

Отже, використання зазначених лікарських засобів спричиняло імунокоригуючу дію на рівень В-лімфоцитів в умовах асоційованого ЕАА і ІС.

Таким чином, виконане комплексне імунологічне дослідження при ЕАА та ІС, опираючись на суттєві порушення клітинного і гуморального імунітету, свідчить про патогенетичні закономірності участі Т-, В-лімфоцитів і ЦК в механізмах розпалу досліджуваної імунокомплексної патології і такого загального адаптаційного синдрому як стрес. Доведено більш інтенсивну імунокоригуючу дію комбінованого застосування корвітину і тіотриазоліну ніж окремо корвітину на порушений імунний гомеостаз при ЕАА і ІС [24].

Таблиця 3.11. - Коригуючий вплив корвітину і тіотриазоліну на рівень В-лімфоцити у крові ЕАА та ІС ($M \pm m$)

Підгрупа дослідних тварин	Термін поєднаного моделювання ЕАА і ІС в добах	Кількість піддослідних тварин	В-лімфоцити в %
Інтактні морські свинки	Контроль	10	15,1±1,5
Тварини з ЕАА та ІС до лікування	24-а доба	10	21,8±1,8 P<0,05
Тварини з ЕАА та ІС після ін'єкцій тіотриазоліну і корвітину	24-а доба	10	16,5±1,6 P ₁ <0,05
Тварини з ЕАА та ІС після ін'єкцій корвітину	24-а доба	8	18,0±1,5 P ₂ <0,05

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

Примітка 2. p₁ – достовірність різниці при порівнянні показників без та з введенням корвітиному і тіотриазоліну (на 24-у добу ІС і ЕАА).

Примітка 3. p₂ – достовірність різниці при порівнянні показників без та з введенням корвітину (на 24-у добу ІС і ЕАА).

Таблиця 3.12. – Вплив тіотриазоліну і корвітину на рівень ЦІК в крові при ЕАА та ІС ($M \pm m$)

Підгрупа дослідних тварин	Термін поєданого моделювання ЕАА і ІС в добах	Кількість піддослідних тварин	ЦІК в од. опт. щ.
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$38,4 \pm 1,8$
Тварини з ЕАА та ІС до лікування	24-а доба	10	$57,9 \pm 2,4$ $P < 0,05$
Тварини з ЕАА та ІС після ін'єкцій тіотриазоліну і корвітину	24-а доба	10	$42,8 \pm 2,1$ $P_1 < 0,05$
Тварини з ЕАА та ІС після ін'єкцій корвітину	24-а доба	8	$49,1 \pm 2,4$ $P_2 < 0,05$

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

Примітка 2. p_1 – достовірність різниці при порівнянні показників без та з введенням корвітину і тіотриазоліну (на 24-у добу ІС і ЕАА).

Примітка 3. p_2 – достовірність різниці при порівнянні показників без та з введенням корвітину (на 24-у добу ІС і ЕАА).

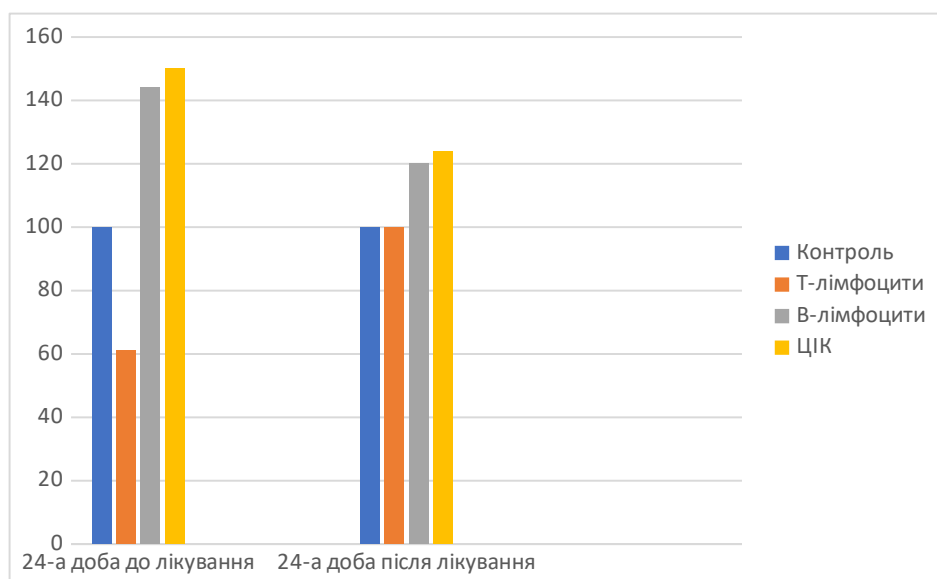


Рисунок 3.4. - Вплив корвітину і тіотриазоліну на порушені показники імунної

системи при ЕАА і ІС на 24-у у добу експерименту (% порівнянні до та після застосування корвітину і тіотриазоліну на 24-у добу ЕАА і ІС).

З урахуванням одержаних результатів дослідження у третьому розділі дисертації викладено такі проміжні висновки:

1. Для експериментального алергічного альвеоліту відносно контролю в крові було властивим зменшення Т-лімфоцитів, підвищення В-лімфоцитів і ЦІК, що набувало максимальних проявів на 14-у і 24-у доби експерименту, однак відносно значень групи інтактних тварин на 1-у добу показники суттєвих змін не зазнавали [24].

2. Імобілізаційний стрес спричиняє послаблення клітинного на тлі інтенсифікації гуморального імунітету проти інтактної групи тварин в усі фази перебігу (1-а, 14-а, 24-а доба), з перевагою на першу стадію (тривоги) [24].

3. ЕАА з ІС порівняно з групою контролю викликає суттєвіші розлади імунного гомеостазу ніж за ізольованого перебігу, домінуючи на 24-у добу [24].

4. Консолідований вплив корвітину і тіотриазоліну виявляв більш істотну імунокоригуючу дію, ніж за умов окремого корвітину, щодо імунних маркерів крові відносно групи тварин без корекції на 24-у добу ЕАА і ІС — зростання Т-лімфоцитів, зниження В-лімфоцитів і ЦІК [24].

Результати третього розділу дисертації відображені в наукових працях [24]

РОЗДІЛ 4

ХАРАКТЕР ЦИТОКІНОВОГО ПРОФІЛЮ ЗА УМОВ ФОРМУВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛЕРГІЧНОГО АЛЬВЕОЛІТУ І ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ ТА КОРЕКЦІЯ ЙОГО ПОРУШЕНЬ КОРВІТИНОМ І ТІОТРИАЗОЛІНОМ

У четвертому розділі дисертаційної роботи описані результати досліджень показників цитокінового статусу крові тварин при ЕАА окремо та з ІС без і з застосуванням тіотриазоліну і корвітину.

Літературні джерела показують, що при розгортанні імунної відповіді цитокінам як багатогранним регуляторам міжклітинних взаємодій належить визначальна роль у запуску імунозапальних реакцій, тому посилений синтез прозапальних чи дисбаланс опозиційних пулів цитокінів має важливе значення у патогенезі різних захворювань у зв'язку із надмірною міграцією ефektorних клітин в осередок запалення, що надалі веде до цитокіноопосередкованого ураження тканин [61, 76, 100, 167, 174, 176, 183, 238, 278, 291, 297, 306, 310]. У зв'язку з цим оцінка цитокінового стану сироватки крові є значущою для загальної характеристики імунно-запальних процесів різного генезу.

У цьому контексті було досліджено прозапальні (ФНП- α і ІЛ-6) і протизапальні цитокіни (ІЛ-10) в крові на 1-у, 14-у і 24-у доби без і з введенням тіотриазоліну і корвітину за ЕАА і ІС [26, 27, 28, 29].

Результати досліджень подані в 4 рисунках та 10 таблицях.

4.1. Кількісні зміни про- і протизапальних цитокінів крові в ході експериментального алергічного альвеоліту

За розвитку ЕАА відбувається надходження в організм тварин антигену, який викликає утворення антитіл, а надалі формується імунний комплекс, який активує комплемент, нейтрофіли, макрофаги, що ініціюють цитокіногенез. Тому

при ЕАА вивчення ФНП- α є закономірним та доцільним. Встановлено, що на 1-у добу ЕАА в крові вміст ФНП- α утримувався в межах контрольних значень, а на 14-у і 24-у доби цієї імунотоксичної патології відносно першої групи тварин в крові помічено неперервне наростання ФНП- α відповідно на 34,2% і 55,2% ($P < 0,05$) (табл. 4.1., рис. 4.1) [26].

Таблиця 4.1. - Концентрація ФНП- α в динаміці формування ЕАА у крові морських свинок ($M \pm m$)

Група дослідних тварин	Термін від початку моделювання АА в добах	Кількість піддослідних тварин	ФНП- α пг/мл
Інтактні морські свинки	Контроль	10	0,38 \pm 0,04
Тварини з ЕАА	1-а доба	10	0,39 \pm 0,04 $P > 0,05$
	14-а доба	10	0,51 \pm 0,05 $P < 0,05$
	24-а доба	10	0,59 \pm 0,05 $P < 0,05$

Примітка. P — достовірність різниці значень параметрів при ЕАА порівняно з показниками групи інтактних тварин

Одночасно, з порівняння з даними інтактних морських свинок в крові на 14-у і 24-у доби ЕАА відповідно впливає зростання ІЛ-6 на 36,4% і 36,2% ($P < 0,05$) (табл. 4.2., рис. 4.1) як маркер посилення імунотоксичних механізмів. Водночас, на 1-у добу експерименту не було зауважено статистично вірогідних відхилень вказаного цитокіну [26, 28, 29].

Поряд з зазначеним, при ЕАА в крові було вивчено якісні відмінності рівня ІЛ-10 як одного з вирішальних протизапальних цитокінів.

Таблиця 4.2. - Вміст ІЛ-6 у крові морських свинок в різні фази формування ЕАА (М±m)

Група дослідних тварин	Термін від початку моделювання АА в добах	Кількість піддослідних тварин	ІЛ-6 пг/мл
Інтактні морські свинки	Контроль	10	0,58±0,05
Тварини з ЕАА	1-а доба	10	0,59±0,05 P>0,05
	14-а доба	10	0,78±0,07 P<0,05
	24-а доба	10	0,79±0,07 P<0,05

Примітка. P — достовірність різниці значень параметрів при ЕАА порівняно з показниками групи інтактних тварин

На початкових етапах розвитку ЕАА (1-а доба) не відбувалося суттєвих змін щодо концентрації ІЛ-10 в крові, значення якого було фіксованим на рівні контрольної групи [27]. Відносно першої групи тварин в крові на 14-у добу ЕАА ІЛ-10 знижувався на 23,3% (P<0,05), в 24-у — на 33,3% (P<0,05) (табл. 4.3., рис. 4.1) [27].

Таким чином, здійснені дослідження цитокінового профілю в динаміці розвитку ЕАА показали незмінність ФНП-α і ІЛ-6, ІЛ-10 в крові на початку (1-а доба) експерименту, а далі (14-у і 24-у доби) рівень прозапальних цитокінів у крові ступінчасто зростав на тлі виснаження протизапального цитокіну, що свідчило про активну їх участь в патогенезі АА [26, 27, 28, 29].

Таблиця 4.3. - Вміст ІЛ-10 в крові в динаміці розвитку ЕАА ($M \pm m$)

Група дослідних тварин	Термін від початку моделювання АА в добах	Кількість піддослідних тварин	ІЛ-10 пг/мл
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$9,0 \pm 0,44$
Тварини з ЕАА	1-а доба	10	$9,1 \pm 0,44$ $P > 0,05$
	14-а доба	10	$6,9 \pm 0,4$ $P < 0,05$
	24-а доба	10	$6,0 \pm 0,4$ $P < 0,05$

Примітка. P — достовірність різниці значень параметрів при ЕАА порівняно з показниками групи інтактних тварин

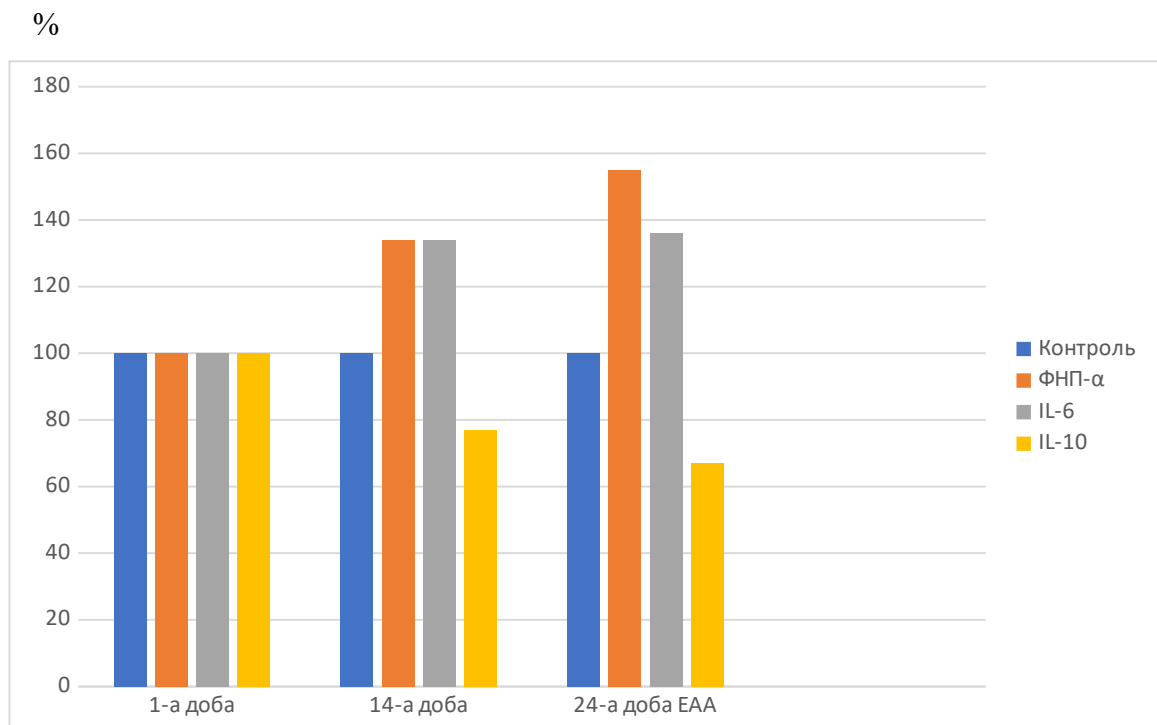


Рисунок 4.1. - Особливості змін маркерів цитокінового профілю в сироватці крові морських свинок в динаміці формування ЕАА (у % від контролю).

Отже, отримані в ході дослідження значні відхилення параметрів цитокінового профілю на 14-у і 24-у доби експерименту проти значень групи контролю, окрім результатів, зафіксованих в 1-у добу експерименту, доводять невід’ємну роль цитокінів та міжклітинних взаємодій у патогенезі ЕАА.

4.2. Кількісні зміни про- і протизапальних цитокінів крові морських в різні періоди розвитку іммобілізаційного стресу (1-у, 14-у і 24-у доби)

Було встановлено, що в процесі формування (1-а, 14-а, 24-а доби) ІС відбувалися суттєві порушення цитокінового статусу залежно від його стадії: у стадії тривоги (1-а доба) ІС спостерігалось найвагомніше підвищення ФНП- α на 47,3%, тоді як у стадії резистентності (14-а доба) і виснаження (24-а доба) тенденція показника у крові відносно контролю була аналогічною, — зростав на 42,1% і 39,4% ($P < 0,05$) відповідно (табл. 4.4., рис. 4.2) [26].

Таблиця 4.4. - Концентрація ФНП- α у крові морських свинок в динаміці розвитку іммобілізаційного стресу ($M \pm m$)

Група дослідних тварин	Термін після моделювання ІС в добах	Кількість піддослідних тварин	ФНП- α пг/мл
Інтактні морські свинки	Контроль	10	0,38 \pm 0,04
Тварини з ІС	1-а доба	10	0,56 \pm 0,05 $P < 0,05$
	14-а доба	10	0,54 \pm 0,05 $P < 0,05$
	24-а доба	10	0,53 \pm 0,05 $P < 0,05$

Примітка. P — достовірність різниці значень параметрів при ІС порівняно з показниками групи інтактних тварин

При моделюванні ІС на 1-у, 14-у і 24-у доби проти першої групи тварин в крові помічено відхилення ІЛ-6 подібної направленості у вигляді підвищення на 36,2%, 32,7% і 29,3% ($P < 0,05$) відповідно (табл. 4.5., рис. 4.2), що вказувало на інтенсифікацію синтезу вищезазначеного цитокіну в усі фази експерименту [26, 28, 29].

Таблиця 4.5. - Вміст ІЛ-6 у крові морських свинок в динаміці розвитку іммобілізаційного стресу ($M \pm m$)

Група дослідних тварин	Термін після моделювання ІС в добах	Кількість піддослідних тварин	ІЛ-6 пг/мл
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$0,58 \pm 0,05$
Тварини з ІС	1-а доба	10	$0,79 \pm 0,07$ $P < 0,05$
	14-а доба	10	$0,77 \pm 0,07$ $P < 0,05$
	24-а доба	10	$0,75 \pm 0,07$ $P < 0,05$

Примітка. P — достовірність різниці значень параметрів при ІС порівняно з показниками групи інтактних тварин

Аналізуючи отримані результати досліджень, можна прийти до висновку, що стадія тривоги найбільш впливала на рівень прозапальних цитокінів, а далі, в стадію резистентності і виснаження, така схильність зберігалася з дещо меншими цифрами ІЛ-6, проте зростаючими проти інтактної групи тварин [26, 27, 28, 29].

Інших змін зазнавав протизапальний ІЛ-10, який був помітно зниженим в порівнянні з контролем в крові, особливо в стадію тривоги — на 32,2%, а в інші стадії (резистентності і виснаження – 14-у, 24-у доби) таким же чином, однак дещо меншим — на 30,0% і 31,1% ($P < 0,05$) (табл. 4.6., рис. 4.2) [27].

Підсумовуючи отримані результати досліджень, можна стверджувати, що стадії стресу значно впливають на концентрацію про- і протизапальних цитокінів з перевагою в першу стадію — тривоги (1-а доба), а саме: зростання ФНП- α і IL-6 при зниженні IL-10 в крові, крім першої стадії відбувалося в інших стадіях з дещо меншим ступенем активності зазначених маркерів при ІС [26, 27, 28, 29].

Таблиця 4.6. - Рівень IL-10 у крові морських свинок в динаміці розвитку іммобілізаційного стресу (M \pm m)

Група дослідних тварин	Термін після моделювання ІС в добах	Кількість піддослідних тварин	IL-10 пг/мл.
Інтактні морські свинки	Контроль	10	9,0 \pm 0,44
Тварини з ІС	1-а доба	10	6,1 \pm 0,4 P<0,05
	14-а доба	10	6,3 \pm 0,4 P<0,05
	24-а доба	10	6,2 \pm 0,4 P<0,05

Примітка. P — достовірність різниці значень параметрів при ІС порівняно з показниками групи інтактних тварин

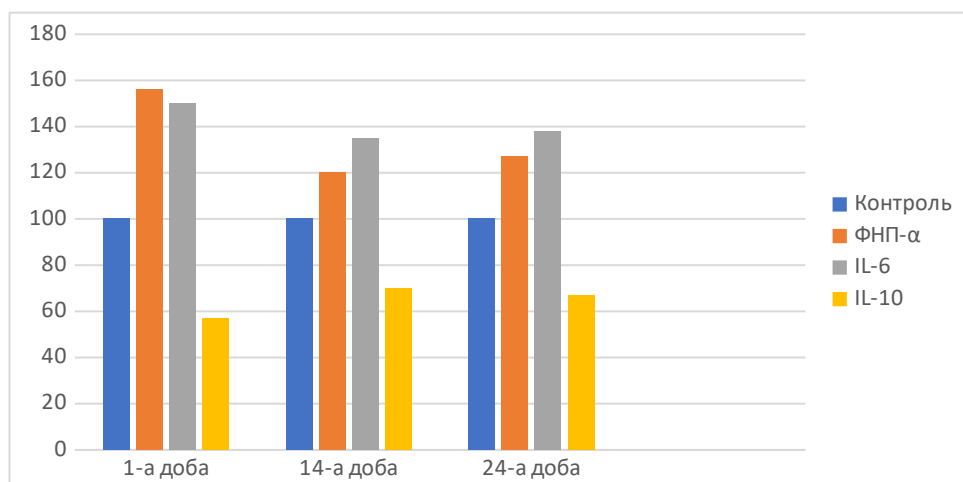


Рисунок 4.2. - Особливості змін показників цитокінового профілю в сироватці крові морських свинок в динаміці формування ІС (% від контролю).

Отже, одержані нами дані вказують на різновекторні зміни, а саме посилення активності прозапальних цитокінів на тлі депресії протизапального цитокіну при ІС.

4.3. Зрушення цитокінового профілю крові в динаміці розвитку ЕАА і ІС

ЕАА, змодельований у комбінації з ІС на 1-у, 14-у і 24-у доби експерименту супроводжувався проти контролю в крові істотним зростанням ФНП- α відповідно на 57,8%, 63,1% і 78,9% ($P < 0,05$) (табл. 4.7., рис. 4.3) [26].

Таблиця 4.7. - Концентрація в крові морських свинок ФНП- α в процесі формування ЕАА в умовах поєднання з іммобілізаційним стресом ($M \pm m$)

Група дослідних тварин	Термін поєднаного моделювання ЕАА і ІС в добах	Кількість піддослідних тварин	ФНП- α пг/мл
Інтактні морські свинки	Контроль	10	0,38 \pm 0,04
Тварини з ЕАА та ІС без використання будь-яких лікарських засобів	1-а доба	10	0,60 \pm 0,05 $P < 0,05$
	14-а доба	10	0,62 \pm 0,05 $P < 0,05$
	24-а доба	10	0,62 \pm 0,06 $P < 0,05$

Примітка. P — достовірність різниці значень параметрів при ЕАА та ІС порівняно з показниками групи інтактних тварин

Подібних змін зазнавав інший прозапальний цитокін, а саме ІЛ-6, який поступово зростав у крові проти інтактної групи тварин на 37,9%, 43,1% і

58,6% ($P < 0,05$) відповідно на 1-у, 14-у і 24-у доби ЕАА і ІС (табл. 4.8., рис. 4.3) [26, 28, 29].

Таблиця 4.8. - Вміст ІЛ-6 в крові морських свинок в процесі формування ЕАА в умовах поєднання з іммобілізаційним стресом ($M \pm m$)

Група дослідних тварин	Термін поєданого моделювання ЕАА і ІС в добах	Кількість піддослідних тварин	ІЛ-6 пг/мл
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$0,58 \pm 0,05$
Тварини з ЕАА та ІС без використання будь-яких лікарських засобів	1-а доба	10	$0,80 \pm 0,08$ $P < 0,05$
	14-а доба	10	$0,83 \pm 0,08$ $P < 0,05$
	24-а доба	10	$0,92 \pm 0,09$ $P < 0,05$

Примітка. P — достовірність різниці значень параметрів при ЕАА та ІС порівняно з показниками групи інтактних тварин

Отже, як видно з одержаних результатів дослідження, що прозапальні цитокіни достовірно підвищувалися на усіх етапах розвитку ЕАА і ІС з особливою перевагою на 24-у добу експерименту, що може свідчити про запуск імунноалергічного процесу в легенях в умовах стресу, його прогресування, а також очевидне виникнення різних ускладнень [26, 28, 29].

На противагу прозапальним цитокінам, в крові було вивчено характер змін протизапального цитокіну – ІЛ-10, за умов розвитку ЕАА і ІС [27].

Встановлено, що різні періоди розвитку ЕАА і ІС (1-а, 14-а і 24-а доби) впливають на ІЛ-10 в крові [27]. Зазначений маркер проти першої групи тварин був видимо зниженим відповідно на 33,3%, 36,6% і 43,3% ($P < 0,05$) (табл. 4.9., рис. 4.3) [27].

Отже, ЕАА поєднаний з ІС зумовлює у крові більш вагомі зміни концентрацій як прозапальних, так і протизапальних цитокінів, які відносно

першої групи тварин послідовно зростали — зокрема, ФНП- α і ІЛ-6 на тлі зниження ІЛ-10, що домінувало на 24-у добу експерименту [26, 27, 28, 29].

Таблиця 4.9. - Рівень ІЛ-10 в крові морських свинок в процесі формування ЕАА в умовах поєднання з іммобілізаційним стресом ($M \pm m$)

Група дослідних тварин	Термін поєданого моделювання ЕАА і ІС в добах	Кількість піддослідних тварин	ІЛ-10 пг/мл
Інтактні морські свинки	Контроль	10	9,0 \pm 0,44
Тварини з ЕАА та ІС без використання будь-яких лікарських засобів	1-а доба	10	6,0 \pm 0,4 P<0,05
	14-а доба	10	5,7 \pm 0,4 P<0,05
	24-а доба	10	5,1 \pm 0,4 P<0,05

Примітка. P — достовірність різниці значень параметрів при ЕАА та ІС порівняно з показниками групи інтактних тварин

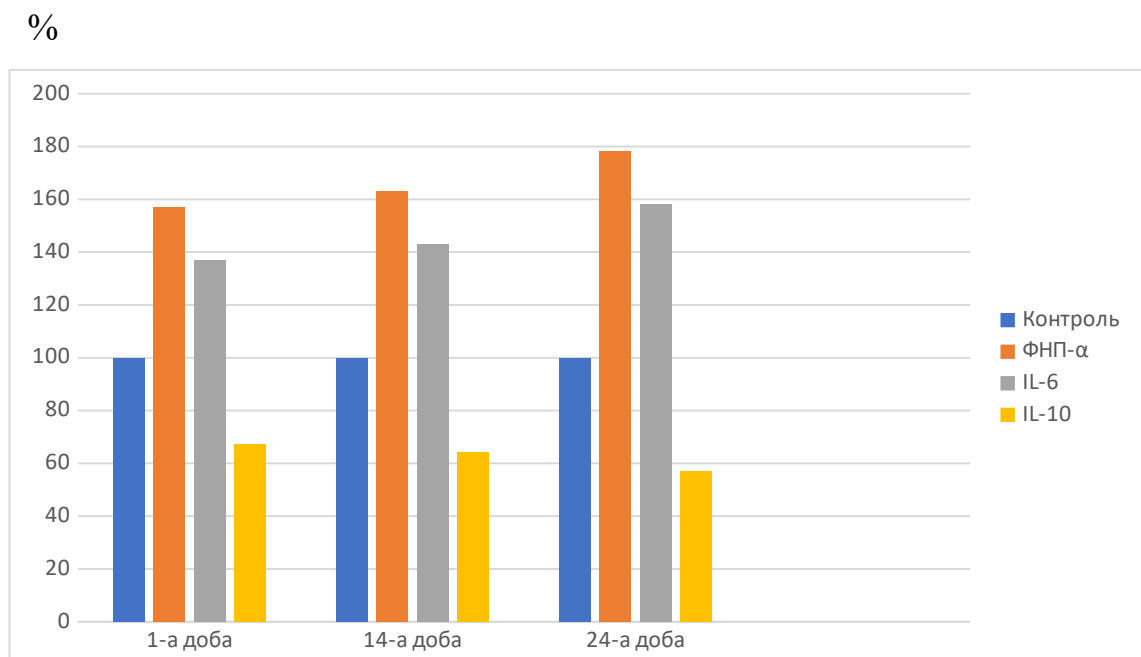


Рисунок 4.3. - Порушення вмісту цитокінів у крові в динаміці розвитку ЕАА і ІС (% від контролю).

Таким чином, як підтверджують результати даних досліджень, консолідовано відтворені ЕАА і ІС спричиняють більш виражений дисбаланс цитокінового профілю, ніж окремо, який має важливе значення для більш вичерпного розуміння окремих механізмів їх перебігу і служить основою для обґрунтування і розробки патогенетичної терапії.

4.4. Вплив тіотриазоліну і корвітину на рівень цитокінів сироватки крові морських свинок при ЕАА і ІС

У попередньому підрозділі дисертації було висвітлено, що ЕАА поєднаний з стресом започатковує розлади цитокіногенезу, що проявляється підвищенням рівня прозапальних цитокінів на тлі зниження протизапального з перевагою відносно контролю на 24-у добу експерименту (без лікування), вказуючи на посилений їх вплив щодо перебігу ЕАА і ІС [26, 27, 28, 29].

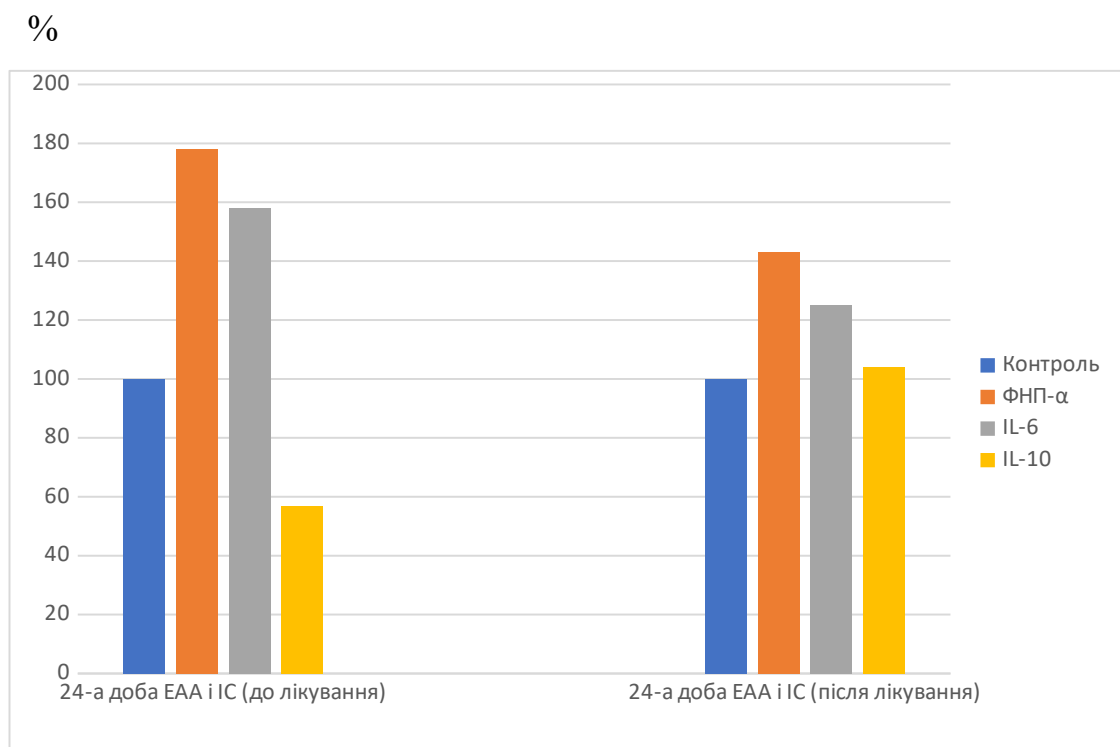


Рисунок 4.4. - Вплив тіотриазоліну і корвітину на порушені показники цитокінів у крові при ЕАА і ІС на 24-у добу експерименту (% порівняння до та після лікування).

Таблиця 4.10. - Вплив тіотриазоліну і корвітину на особливості відхилень деяких параметрів цитокінового профілю у крові (ФНП- α , ІЛ-6, ІЛ-10) при ЕАА і ІС ($M \pm m$)

Підгрупа дослідних тварин	Термін поєднаного моделювання ЕАА і ІС в добах	Кількість морських свинок	ФНП- α пг/мл	ІЛ-6 пг/мл	ІЛ-10 пг/мл
Інтактні морські свинки	Контроль	10	0,38 \pm 0,04	0,58 \pm 0,05	9,0 \pm 0,44
Тварини з ЕАА та ІС на 24-у добу (без застосування лікарських засобів)	24-а доба	10	0,68 \pm 0,06 P<0,05	0,92 \pm 0,09 P<0,05	5,1 \pm 0,4 P<0,05
Тварини з ЕАА та ІС після ін'єкцій тіотриазоліну і корвітину на 24-у добу	24-а доба	10	0,44 \pm 0,04 P<0,05 P ₁ <0,05	0,61 \pm 0,05 P<0,05 P ₁ <0,05	7,5 \pm 0,4 P<0,05 P ₁ <0,05
Тварини з ЕАА та ІС після ін'єкцій корвітину на 24-у добу	24-а доба	8	0,52 \pm 0,05 P<0,05 P ₂ <0,05	0,76 \pm 0,05 P<0,05 P ₂ <0,05	6,4 \pm 0,4 P<0,05 P ₂ <0,05

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

Примітка 2. p_1 – достовірність різниці при порівнянні показників (на 24-у добу ІС і ЕАА) без та зі здійсненням ін'єкцій корвітину і тіотриазоліну.

Примітка 3. p_2 – достовірність різниці при порівнянні показників (на 24-у добу ІС і ЕАА) без та зі здійсненням ін'єкцій корвітину.

Виконання ін'єкцій тіотриазоліну в поєднанні з корвітином при ЕАА і ІС, в порівнянні зі значеннями параметрів групи тварин, щодо якої не застосовували жодних лікарських засобів на 24-у добу експерименту, спричиняє зниження ФНП- α на 35,2%, ІЛ-6 на 33,7%, підвищення ІЛ-10 на 47,0% ($P < 0,05$) [26, 27, 28, 29]. Водночас, зниження на 23,5%, 17,3% ($P < 0,05$) і підвищення на 25,4% ($P < 0,05$) відповідно було встановлено за ізольованого застосування корвітину, що засвідчує їх позитивний вплив на рівень цитокінів при ЕАА в умовах ІС (табл. 4.10., рис. 4.4) [26, 27, 28, 29].

Отже, проводячи аналіз одержаних даних можна констатувати, що ЕАА та ІС викликає більш суттєвіший дисбаланс цитокінів відносно контролю впродовж усіх періодів дослідження, особливо на 24-у добу (без лікування), ніж при окремо виділеній кожній з експериментальних моделей [26, 27, 28, 29].

Одночасне застосування двох препаратів зумовлює більш помітний цитокінокоригуючий ефект, ніж за введення одного тільки корвітину, очевидною ознакою чого є підвищенням концентрації протизапального цитокіну в умовах зниження протизапальних цитокінів, що може вказувати на доцільність подальших експериментальних і можливих їх клінічних досліджень при ЕАА і ІС.

Грунтуючись на отримані результати дослідження, у цьому розділі дисертації було виражено наступні проміжні висновки:

1. ЕАА спричиняє дисбаланс цитокінового статусу крові на 14-у і 24-у доби експерименту (за винятком 1-ої доби) проти контролю, а саме — зростання ФНП- α і ІЛ-6, зниження ІЛ-10 [26, 27, 28, 29].

2. На усіх фазах розвитку стресу відносно інтактної групи тварин відбувається підвищення ФНП- α і ІЛ-6, супроводжуючись зниженням ІЛ-10 в крові із перевагою у стадію тривоги (1-а доба) [26, 27, 28, 29].

3. Алергічний альвеоліт асоційований з ІС викликає більш суттєві зміни щодо цитокінового статусу ніж окремо, а саме — зростання активності прозапальних цитокінів на тлі депресії протизапального цитокіну в крові на усіх етапах експерименту в порівнянні з контролем з домінуванням на 24-у добу [26, 27, 28, 29].

4. В порівнянні з групою морських свинок без використання медичних препаратів, синхронне виконання ін'єкцій тіотриазоліну і корвітину обумовлювало більш переконливий коригуючий ефект стосовно розладів цитокінового статусу, ніж за ін'єкцій корвітину відокремлено [26, 27, 28, 29].

Результати четвертого розділу дисертації відображені в наступних наукових працях [26, 27, 28, 29].

РОЗДІЛ 5

СТАН СИСТЕМИ ОКСИДУ АЗОТУ ЛЕГЕНЬ МОРСЬКИХ СВИНОК У РІЗНІ ПЕРІОДИ ФОРМУВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛЕРГІЧНОГО АЛЬВЕОЛІТУ І ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ ТА КОРЕКЦІЯ ЇХ ПОРУШЕНЬ ТІОТРИАЗОЛІНОМ І КОРВІТИНОМ

Оксид азоту (NO), продукуючись в ендотеліоцитах, гладком'язових клітинах, нейронах та астроцитах префронтальної кори, смугастого тіла, гіпокампа, зубчастої звивини, міжніжкового ядра внаслідок активації їх ГАМК- і NMDA-рецепторів за участі cNOS, про зростання експресії генів якої під час стресу і тривоги вже доведено, забезпечує регуляцію нейротрансмісії, збудливості нейронів, проведення больової імпульсації спіно-таламічним шляхом, обробки сенсорної інформації, формування орієнтувальних рефлексів (нюхова цибулина, нижні горбки таламуса), сенситизації, репродукції, апетиту, пам'яті та навчання, утворення ГАМК, глутамату, гістаміну та серотоніну, тоді як в патологічних умовах утворення NO за участі нейтрофілів і макрофагів, що відбувається впродовж щонайменше 5 днів, відіграє роль у модулюванні Т-хелперно-супресорного співвідношення, міграції лімфоцитів, цитолітичної здатності НК-клітин та, відповідно, встановленні ролі стабільних метаболітів оксиду азоту як маркерів динаміки захворювань алергічного та запального характеру і ефективності застосовуваних ліків [25, 91, 198]. Зацікавлює і шкідлива роль NO в патогенезі захворювань через здатність до S-нітрозилування і нітротирозування білків-рецепторів, йонних каналів та ферментів, утворення нітрогуаніну і розривів ланцюгів ДНК [198].

У цьому зв'язку вивчення в легенях особливостей розладів маркерів системи оксиду азоту при ЕАА і ІС без введення будь-яких лікарських засобів та після комбінованого використання корвітину і тіотриазоліну має вагу для детальнішого розуміння окремих механізмів розвитку даних моделей хвороб та встановлення ефективності патогенетичної терапії.

Результати досліджень даного розділу висвітлені у 10 таблицях та 4 рисунках.

5.1. Характеристика відхилень параметрів системи оксиду азоту в легенях при експериментальному алергічному альвеоліті

Як видно з одержаних результатів дослідження, що в динаміці (1-а, 14-а, 24-а доби) прогресування експериментального алергічного альвеоліту відносно контролю в легенях відбувалося постадійне зростання стабільних метаболітів NO відповідно на 50,0%, 75,0%, 100,0% ($P < 0,05$), цим підкреслюючи, що у найвіддаленіший термін відстеження ці відмінності були більш переконливими (24-а доба), зберігаючись в межах високих абсолютних значень в усі інші фази маніфестації ЕАА [25].

Таблиця 5.1. - Вміст в легенях морських свинок стабільних метаболітів NO в ході розвитку ЕАА ($M \pm m$)

Група дослідних тварин	Термін від початку моделювання АА в добах	Кількість піддослідних тварин	Стабільні метаб. NO в мкмоль/л мг білка
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$0,04 \pm 0,004$
Тварини з ЕАА	1-а доба	10	$0,06 \pm 0,005$ $P < 0,05$
	14-а доба	10	$0,07 \pm 0,005$ $P < 0,05$
	24-а доба	10	$0,08 \pm 0,006$ $P < 0,05$

Примітка. P — достовірність різниці значень параметрів при ЕАА порівняно з показниками групи інтактних тварин

Вимірювання в легенях сумарної активності NOS дало змогу показати її послідовне підвищення відносно першої групи тварин на 1-у, 14-у і 24-у доби ЕАА відповідно на 22,2%, 38,8%, 61,1% ($P < 0,05$) (табл. 5.2; рис. 5.1) [25].

Таблиця 5.2. – Сумарна NO-синтазна активність (NOS) в ході розвитку ЕАА в легенях морських свинок ($M \pm m$)

Група дослідних тварин	Термін від початку моделювання АА в добах	Кількість піддослідних тварин	NOS нмоль НАДФ (хв/мл) мг білка
Інтактні морські свинки	Контроль	10	0,18±0,008
Тварини з ЕАА	1-а доба	10	0,22±0,009 P<0,05
	14-а доба	10	0,25±0,009 P<0,05
	24-а доба	10	0,29±0,02 P<0,05

Примітка. P — достовірність різниці значень параметрів при ЕАА порівняно з показниками групи інтактних тварин

Таблиця 5.3. - Показники вмісту L-аргініну у легенях в ході розвитку ЕАА ($M \pm m$)

Група піддослідних тварин	Термін від початку моделювання АА в добах	Кількість піддослідних тварин	L-arg мкг/мл мг білка
Інтактні морські свинки	Контроль	10	0,06±0,003
Тварини з ЕАА	1-а доба	10	0,06±0,009 P>0,05
	14-а доба	10	0,04±0,004 P<0,05
	24-а доба	10	0,03±0,005 P<0,05

Примітка. P — достовірність різниці значень параметрів при ЕАА порівняно з показниками групи інтактних тварин

Дослідження в 1-у добу ЕАА в легенях L-аргініну продемонструвало його відповідність значенням групи контролю з відсутністю будь-яких вірогідних істотних змін [25]. Згодом на 14-у добу відтворення хвороби в експерименті проти інтактних тварин у легенях відзначено зниження L—аргініну на 33,3% ($P<0,05$) (табл. 5.3; рис. 5.1) [25].

Відносно групи контролю, на 24-у добу ЕАА спрямованість спадання вказаного маркера набула найнижчих показників — зафіксовано його опущення на 50,0% (табл. 5.3; рис. 5.1) [25].

Отже, як видно з одержаних результатів, L-аргінін зазнавав найнижчих цифрових змін у найпізніший термін експерименту, і це, очевидно, пояснюється значною витратою даного білка на посилений синтез оксиду азоту [25].

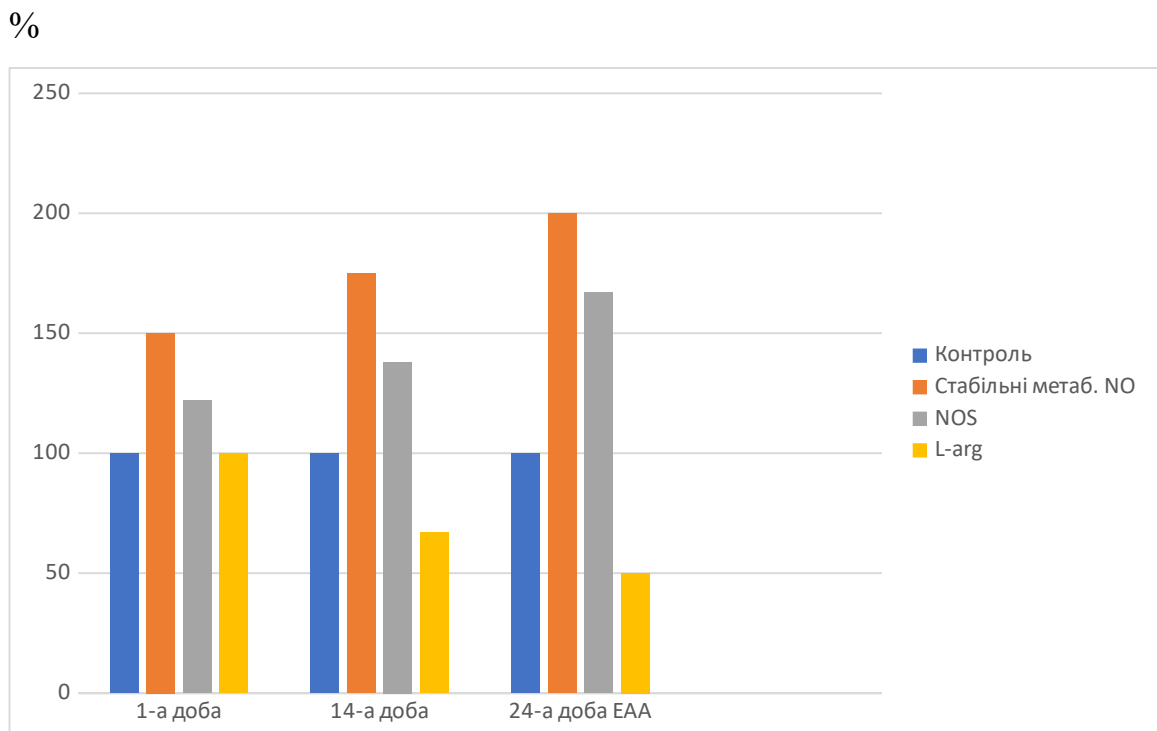


Рисунок 5.1. - Особливості змін показників системи L-аргінін-оксиду азоту у легенях морських свинок в динаміці формування ЕАА (у % від контролю).

Отже, проведені нами дослідження нітрит і нітрат йонів, сумарної активності NOS і L-аргініну в легенях при АА відносно першої групи тварин, показало поступове зростання стабільних метаболітів NO і активності NOS на

тлі помітного зниження L-аргініну з особливою перевагою на 14-у і 24-у, що залежало від ступеня посилення і фази формування алергічного процесу [25]. Це має важливе значення щодо усвідомлення участі порушень показників системи NO в патогенезі досліджуваної імунокомплексної патології.

5.2. Характеристика відхилень маркерів системи оксиду азоту у легенях у різних фазах формування іммобілізаційного стресу (1-у, 14-у і 24-у доби)

Метою даного підрозділу стало визначення характеру порушень у легенях показників системи NO при прогресуванні іммобілізаційного стресу.

Встановлено, що у першій стадії тривоги (1-а доба) стресу відбувалося в легенях найсуттєвіше підвищення проти контролю стабільних метаболітів NO — на 75% ($P < 0,05$) (табл. 5.4; рис. 5.2) [25].

Таблиця 5.4. - Показники вмісту стабільних метаболітів NO в легенях морських свинок в ході формування іммобілізаційного стресу ($M \pm m$)

Група дослідних тварин	Термін після моделювання ІС в добах	Кількість піддослідних тварин	Стабільні метаб. NO в мкмоль/л мГ білка
Інтактні морські свинки	Контроль	10	0,04±0,004
Тварини з ІС	1-а доба	10	0,07±0,005 $P < 0,05$
	14-а доба	10	0,06±0,005 $P < 0,05$
	24-а доба	10	0,064±0,005 $P < 0,05$

Примітка. P — достовірність різниці значень параметрів при ІС порівняно з показниками групи інтактних тварин

Було помічено утримання високих значень вищевказаного досліджуваного параметру у вигляді його збільшення відносно інтактної групи тварин на 14-у і

24-у доби експерименту, тобто в другій і третій стадіях ІС (резистентності та виснаження) — на 50,0% і 60,0% ($P<0,05$) відповідно, однак меншої інтенсивності, ніж в стадію тривоги ІС у 1-у добу (табл. 5.4; рис. 5.2).

Таблиця 5.5. – Відхилення у легенях морських свинок NOS в ході формування іммобілізаційного стресу ($M\pm m$)

Група дослідних тварин	Термін після моделювання ІС в добах	Кількість піддослідних тварин	NOS нмоль НАДФ (хв/мл) мг білка
Інтактні морські свинки	Контроль	10	0,18±0,008
Тварини з ІС	1-а доба	10	0,30±0,02 $P<0,05$
	14-а доба	10	0,24±0,09 $P<0,05$
	24-а доба	10	0,25±0,09 $P<0,05$

Примітка. P — достовірність різниці значень параметрів при ІС порівняно з показниками групи інтактних тварин

Визначення сумарної активності NOS в легенях при порівнянні з першою групою тварин на усіх стадіях прояву стресу (тривоги, резистентності і виснаження) показало її зростання відповідно на 66,6%, 33,3%, 38,8% ($P<0,05$) (табл. 5.5; рис. 5.2) [25].

Дослідження L-аргініну в легенях у динаміці (1-а, 14-а, 24-а доби) формування ІС показало проти контролю зниження його на усіх етапах відповідно на 33,3%, 16,6%, 28,3% ($P<0,05$) (табл. 5.6; рис. 5.2) [25].

Отримані дані, зокрема, зниження L-аргініну, можна пояснити потужнішою, підвищеною витратою його на синтез NO при ІС.

Таблиця 5.6. - Рівень L-arg у легенях морських свинок в ході формування іммобілізаційного стресу ($M \pm m$)

Група дослідних тварин	Термін після моделювання ІС в добах	Кількість піддослідних тварин	L-arg мкг/мл мг білка
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$0,06 \pm 0,003$
Тварини з ІС	1-а доба	10	$0,04 \pm 0,004$ $P < 0,05$
	14-а доба	10	$0,05 \pm 0,005$ $P < 0,05$
	24-а доба	10	$0,043 \pm 0,004$ $P < 0,05$

Примітка. P — достовірність різниці значень параметрів при ІС порівняно з показниками групи інтактних тварин

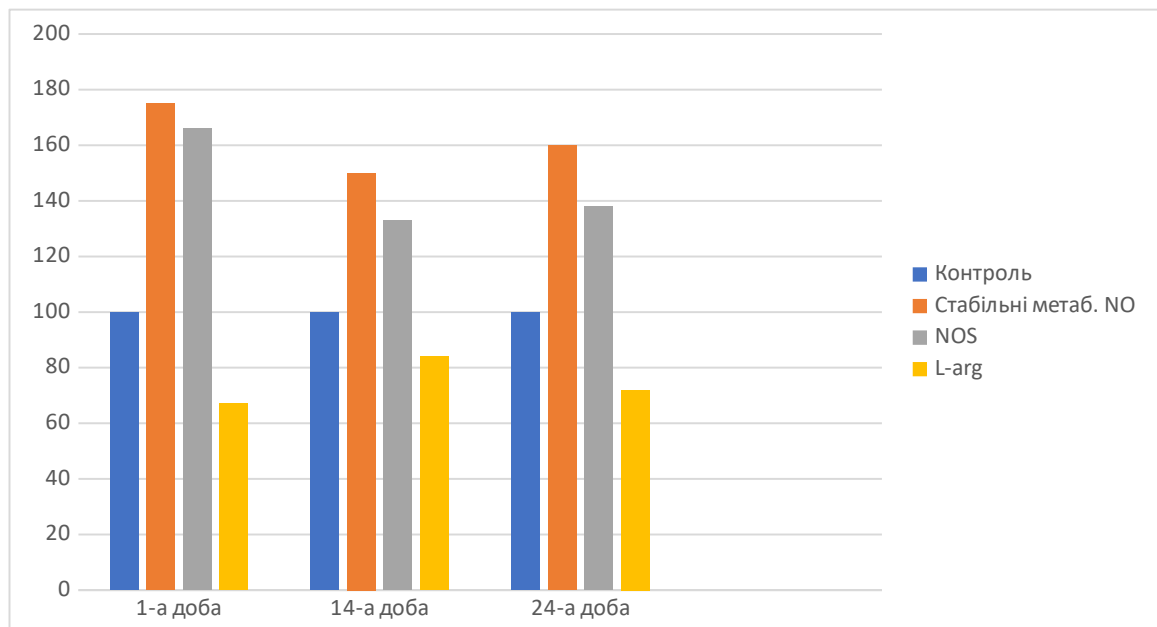


Рисунок 5.2. - Особливості змін показників системи L-аргінін-оксиду азоту у легенях морських свинок в динаміці формування ІС (% від контролю).

Отже, підводячи підсумки отриманих результатів досліджень можна констатувати, що ІС на усіх стадіях свого розвитку суттєво вплинув на

показники системи оксиду азоту, а саме було виявлено істотне підвищення стабільних метаболітів NO і сумарної активності NO синтази в умовах зниження L-аргініну з домінування їх змін відносно першої групи тварин у першій стадії (1-а доба) тривоги стресу [25].

5.3. Особливості змін маркерів системи оксиду азоту у легенях в динаміці розвитку ЕАА і ІС

ЕАА поєднаний з ІС (1-а, 14-а, 24-а доби) зумовлював в легенях проти контрольної групи тварин значуще динамічне зростання стабільних метаболітів NO відповідно на 75,0%, 125,0%, 140,0% ($P < 0,05$) (табл. 5.7; рис. 5.3) [25].

Таблиця 5.7. - Концентрація у легенях морських свинок стабільних метаболітів NO в ході розвитку ЕАА та іммобілізаційного стресу ($M \pm m$)

Група дослідних тварин	Термін поєднаного моделювання ЕАА і ІС в добах	Кількість піддослідних тварин	Стабільні метаб. NO в мкмоль/л мг білка
Інтактні морські свинки	Контроль	10	0,04±0,004
Тварини з ЕАА та ІС до лікування	1-а доба	10	0,07±0,005 $P < 0,05$
	14-а доба	10	0,09±0,005 $P < 0,05$
	24-а доба	10	0,096±0,005 $P < 0,05$

Примітка. P — достовірність різниці значень параметрів при ЕАА та ІС порівняно з показниками групи інтактних тварин

Одержані дані можуть свідчити про те, що за визначенням цього показника можна характеризувати ступінь активності даної моделі хвороб і стресу.

Визначення в легенях сумарної активності NOS дозволило встановити в ході відтворення ЕАА разом з ІС (1-а, 14-а, 24-а доби) її нестримне підвищення активності при порівнянні з першою групою тварин відповідно на 72,2%, 111,1%, 122,2% ($P < 0,05$), що підтверджує ознаки індукції імунно-запального процесу і посилення розвитку змодельованої імунотоксичної патології і стресу (табл. 5.8; рис. 5.3) [25].

Таблиця 5.8. – Активність NOS в ході розвитку ЕАА та іммобілізаційного стресу у легенях морських свинок ($M \pm m$)

Група дослідних тварин	Термін поєднаного моделювання ЕАА і ІС в добах	Кількість піддослідних тварин	NOS нмоль НАДФ (хв/мл) мг білка
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$0,18 \pm 0,008$
Тварини з ЕАА та ІС до лікування	1-а доба	10	$0,31 \pm 0,02$ $P < 0,05$
	14-а доба	10	$0,38 \pm 0,04$ $P < 0,05$
	24-а доба	10	$0,40 \pm 0,05$ $P < 0,05$

Примітка. P — достовірність різниці значень параметрів при ЕАА та ІС порівняно з показниками групи інтактних тварин

Вимірювання концентрації L-аргініну при консолідованій постановці ЕАА і ІС на 1-у, 14-у і 24-у доби експерименту в легенях засвідчило відносно інтактної групи тварин поступальне його зниження відповідно на 31,6%, 50,0%, 55,0% ($P < 0,05$) (табл. 5.9; рис. 5.3) [25].

Таблиця 5.9. - L-arg в ході розвитку ЕАА та іммобілізаційного стресу в легенях морських свинок ($M \pm m$)

Група дослідних тварин	Термін поєданого моделювання ЕАА і ІС в добах	Кількість піддослідних тварин	L-arg мкг/мл мг білка
Інтактні морські свинки	Контроль	10	0,06±0,00
Тварини з ЕАА та ІС до лікування	1-а доба	10	0,041±0,004 P<0,05
	14-а доба	10	0,03±0,004 P<0,05
	24-а доба	10	0,027±0,003 P<0,05

Примітка. P — достовірність різниці значень параметрів при ЕАА та ІС порівняно з показниками групи інтактних тварин

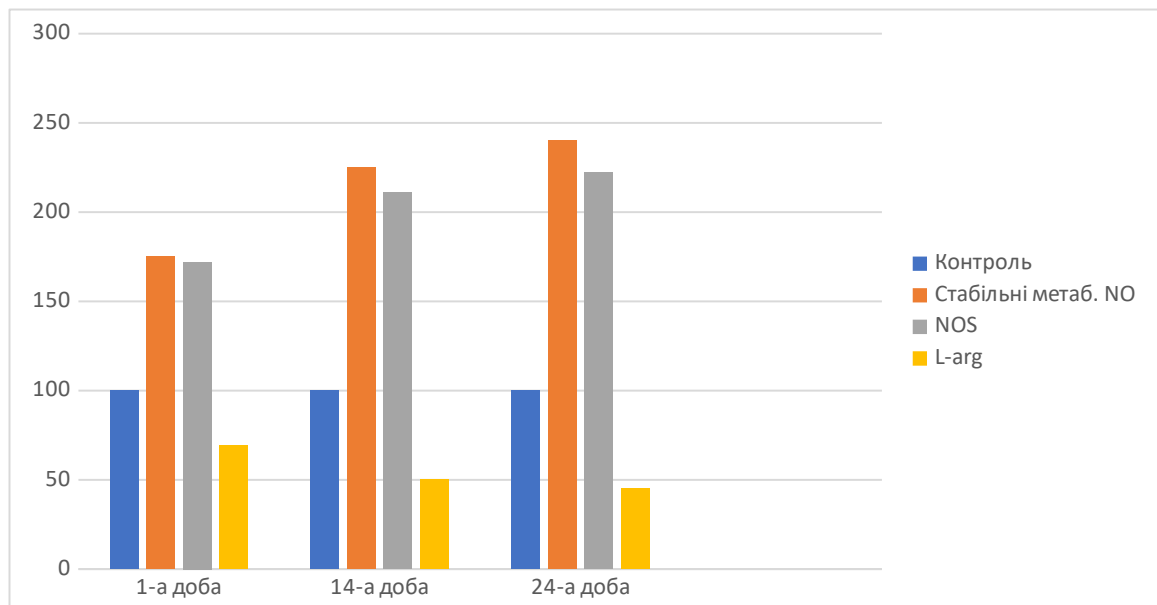


Рисунок 5.3. - Особливості змін показників системи L-аргінін-оксиду азоту у легенях в динаміці розвитку ЕАА і ІС (% від контролю).

Як видно з отриманих результатів дослідження, зниження L-аргініну можна пояснити значними його розтратами на інтенсивний синтез оксиду азоту, який поступово зростає в залежності від тривалості експерименту, особливо в

умовах ЕАА поєднаного з ІС, що свідчило про суттєві порушення обміну оксиду азоту, помітну активізацію у легенях імунно-запальних розладів та прогресування стресу, а також — чільне положення зазначених основних компонентів метаболізму оксиду азоту у визначенні шляхів і стратегії патогенетичної терапії.

Таким чином, проведений комплекс досліджень стосовно показників оксиду азоту при експериментальному суміщенні ЕАА і стресу виявив вагомі порушення з боку елементів метаболізму даної системи, які супроводжувалися в легенях підвищенням стабільних метаболітів NO і активності NOS на тлі зниження L-аргініну проти контрольних величин, що домінувало на 14-у і 24-у доби експерименту, і підкріпило значимість їх участі в патогенезі ЕАА і ІС [25].

5.4. Вплив тіотриазоліну і корвітину на зміни показників системи оксиду азоту в легенях при ЕАА і ІС

Комбіноване застосування тіотриазоліну разом з корвітином, як і окреме введення одного корвітину, при моделюванні ЕАА і ІС на 24-у добу експерименту відносно групи тварин, які не зазнавали впливу лікарських середників, обумовлювало в легенях відповідно збільшення L-аргініну — на 55,5% ($P < 0,05$) і 40,7% ($P < 0,05$), зниження активності NOS — на 35,0% ($P < 0,05$) і 22,5% ($P < 0,05$), стабільних метаболітів NO на 37,5% ($P < 0,05$) і 25,0% ($P < 0,05$), що вказувало на їх коригувальну дію щодо змінених маркерів метаболізму оксиду азоту (табл. 5.10; рис. 5.4) [25].

Отже, отримані результати досліджень дозволяють стверджувати, що сумісне відтворення ЕАА з ІС відносно контролю зумовлює більш помітні порушення параметрів обміну оксиду азоту, ніж відокремлене моделювання [25]. Застосування разом тіотриазоліну і корвітину більше спрямовує в напрямку норми показники NO, ніж при ін'єкціях одного корвітину, і може свідчити про їх позитивний вплив на змінені метаболічні процеси в легенях

щодо оксиду азоту, які виникли в результаті імунокомплексної патології і іммобілізаційного стресу.

Таблиця 5.10. - Вплив тіотриазоліну і корвітину на відхилення показників системи NO у легенях при ЕАА і ІС ($M \pm m$)

Підгрупа дослідних тварин	Термін постановки ЕАА в поєднанні з ІС в добах	Кількість морських свинок	Стабільні метаб. NO в мкмоль/л мг білка	NOS нмоль НАДФ (хв/мл) мг білка	L-arg мкг/мл мг білка
Інтактні морські свинки	Контроль	10	0,04±0,004	0,18±0,08	0,06±0,003
Тварини з ЕАА та ІС на 24-у добу (без введення лікарських засобів)	24-а доба	10	0,096±0,005 P<0,05	0,40±0,05 P<0,05	0,027±0,003 P<0,05
Тварини з ЕАА та ІС на 24-у добу (після застосування тіотриазоліну і корвітину)	24-а доба	10	0,06±0,005 P<0,05 P ₁ <0,05	0,26±0,009 P<0,05 P ₁ <0,05	0,042±0,004 P<0,05 P ₁ <0,05
Тварини з ЕАА та ІС на 24-у добу (після	24-а доба	8	0,072±0,005 P ₂ <0,05	0,31±0,005 P ₂ <0,05	0,038±0,004 P ₂ <0,05

застосування корвітину)					
----------------------------	--	--	--	--	--

Примітка 1. p – достовірність різниці при порівнянні ІС і ЕАА з даними групи контролю;

Примітка 2. p_1 – достовірність різниці при порівнянні показників (на 24-у добу ІС і ЕАА) без та з виконанням ін'єкцій корвітину і тіотриазоліну.

Примітка 3. p_2 – достовірність різниці при порівнянні показників (на 24-у добу ІС і ЕАА) без та з виконанням ін'єкцій корвітину.

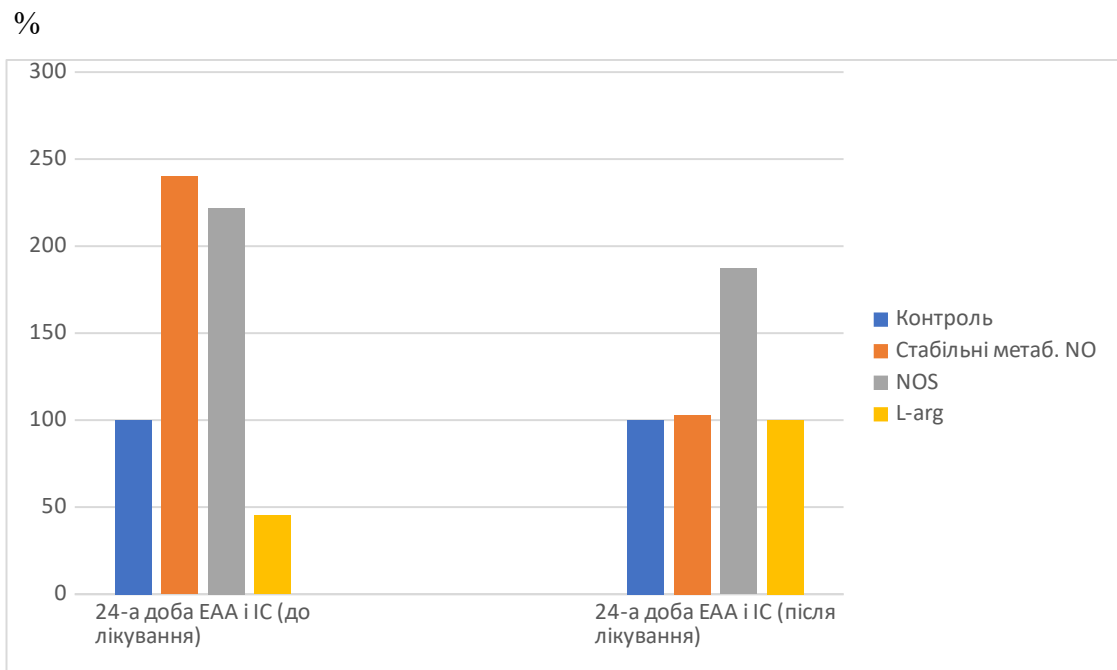


Рисунок 5.4. - Дія тіотриазоліну і корвітину на параметри метаболізму L-аргінін-оксиду азоту у легенях при ЕАА і ІС на 24-у добу експерименту (% порівняння без та з введенням препаратів).

Аналізуючи одержані позитивні результати дії тіотриазоліну і корвітину дають підставу констатувати, що зазначені лікарські середники за їх призначення поєднано викликає більш суттєвий вплив ніж ін'єкції корвітину ізольовано, через що надалі стає доцільним їх вивчати при ЕАА і стресі не лише під час здійснення експериментів на тваринах, а й перенесення отриманого досвіду в медичну практику.

На основі отриманих результатів дослідження було зроблено наступні проміжні висновки.

1. ЕАА спричиняє порушення показників обміну оксиду азоту, які проявлялися підвищенням стабільних метаболітів NO і активності NOS на тлі зниження L-аргініну в легенях, особливо на 14-у і 24-у доби експерименту проти контролю [25].

2. На усіх стадіях (1-а, 14-а, 24-а доби) розвитку ІС відносно інтактної групи тварин зниження L-аргініну, зростання стабільних метаболітів NO і сумарної активності NOS в легенях з перевагою у першу стадію (тривоги) [25].

3. ЕАА поєднаний з ІС зумовлює глибокі зміни метаболізму NO на усіх періодах (1-а, 14-а, 24-а доби) їх формування з домінуванням на 24-у добу (підвищення нітрит- і нітрат-іонів NO, активності NOS і зниження L-аргініну) в легенях при порівнянні з першою групою тварин без лікування [25].

4. Консолідоване використання тіотриазоліну і корвітину викликало більш позитивний вплив ніж за умов відокремленого застосування корвітину на порушені метаболічні процеси NO (зниження стабільних метаболітів NO і активності NOS зі зростанням L-аргініну в легенях) при ЕАА і ІС відносно аналогічної групи тварин з ЕАА і ІС на 24-у добу експерименту без лікування [25].

Результати п'ятого розділу дисертації відображені в наступних наукових працях [25]

РОЗДІЛ 6
СПЕЦИФІКА ЗРУШЕНЬ ПРООКСИДАНТНОЇ-АНТИОКСИДАНТНИХ
СИСТЕМ У ЛЕГЕНЯХ В ДИНАМІЦІ РОЗВИТКУ
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛЕРГІЧНОГО АЛЬВЕОЛІТУ ТА
ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ КОРВІТИНОМ І
ТІОТРИАЗОЛІНОМ

У шостому розділі дисертаційної роботи приділено увагу питанням дизбалансу вільнорадикального окиснення і протективних антиоксидантних механізмів, корелюючих від фази прогресування ЕАА та ІС, що допомагає розкрити внесок належних молекулярних систем запуску альтерації клітин.

При імуно-запального походження патологіях встановлено факт індукування залучення лейкоцитів як ланки елімінації причинних агентів, що в більшості випадків супроводжується ініціацією НАДН-оксидазної системи фагоцитів, яка генерує пероксид водню, гідроксильний радикал, супероксид-радикал і синглетний кисень, та мієлопероксидазної системи нейтрофілів, продукуючої гіпохлорит-аніон [1, 60, 184]. Невід'ємною умовою перебігу оксидативного вільнорадикального стресу в даному випадку є відносна робоча неспроможність антиоксидантних захисних систем, коли генерація вільних радикалів за інтенсивністю переважає швидкість їх утилізації [184]. Основними наслідками реакцій вільнорадикального окиснення неестерифікованих жирних кислот і фосфоліпідів, які обумовлюють пошкодження плазматичних мембран та мембран органел, розлади їх текучості та проникності, є виявлення основ Шиффа, дієнових кон'югатів, малонового діальдегіду, тоді як окиснення білків викликає структурно-функціональні перебудови рецепторів, білків антиоксидантних ферментів, пентозофосфатного циклу, а нуклеїнових кислот — окисні видозміни ДНК [1, 4, 30, 60, 184]. Звідси випливає, що оксидантний стрес тої чи іншої вираженості супроводжує розвиток більшості хвороб запального та алергічного характеру [10, 11, 18, 19].

З цією метою були проведені біохімічні дослідження та проаналізовані у легенях результати порушення маркерів прооксидантної (МДА і ДК) та складників антиоксидантної системи — ферментативного (КТ, СОД) і неферментативного (ЦП) в ході моделювання ЕАА і ІС без та після виконання ін'єкцій препаратів тіотриазоліну і корвітину [30]. Відомо, що антиоксидантний вплив тіотриазоліну і корвітину характеризується виразними мембраностабілізуючими властивостями, що сприяє нормалізації прооксидантно-антиоксидантного співвідношення, шляхом підсилення синтезу і активності ферментів антирадикального захисту і, як наслідок, – підвищенням стійкості клітин до екстремальних впливів продукції ПОЛ [15, 47, 56, 58, 68, 79, 95, 115, 136, 144, 159, 177, 185, 189, 204, 241, 266, 272, 303, 310, 313, 321].

Результати досліджень представлені в 16 таблицях та 4 рисунках.

6.1 Типові зміни стану прооксидантної і антиоксидантної систем в легенях у динаміці розвитку експериментального алергічного альвеоліту (1-у, 14-у і 24-у доби)

Аналіз вільнорадикального окиснення у легенях в перебігу змодельованого алергічного альвеоліту здійснено ґрунтуючись на притаманних відхиленнях прооксидантних маркерів, — зокрема, інтенсивності продукування вільнорадикальних метаболітів ліпідного окиснення – ДК і МДА, та ферментативних антиоксидантно-протективних систем – СОД, КТ і ЦП (табл.6.1-6.5; рис.6.1) [30].

Таблиця 6.1. - Дієнові кон'югати легень в ході ЕАА у морських свинок ($M \pm m$)

Група дослідних тварин	Термін від початку моделювання АА в добах	Кількість піддослідних тварин	ДК в нмоль/(г)
Інтактні морські свинки	Контроль	10	12,5±0,4
Тварини з ЕАА	1-а доба	10	15,2±0,4

			P<0,05
	14-а доба	10	16,5±0,4 P<0,05
	24-а доба	10	19,6±0,0 3 P<0,05

Примітка. P — достовірність різниці значень параметрів при ЕАА порівняно з показниками групи інтактних тварин

У процесі експериментів зауважено в гомогенаті тканини легень на 1-у, 14-ту, 24-ту доби моделювання ЕАА нестримне збільшення відносно значень контрольної групи продуктів ліпероксидації у вигляді наростання ДК — на 21,6%, 32,0%, 56,8% (P<0,05) і МДА на 15,1%, 27,4%, 60,1% (P<0,05) відповідно (табл. 6.1; табл. 6.2; рис. 6.1) [30].

Таблиця 6.2. - Вміст малонового діальдегіду в легенях морських свинок в динаміці розвитку ЕАА (M±m)

Група дослідних тварин	Термін від початку моделювання АА в добах	Кількість піддослідних тварин	МДА в нмоль/(г)
Інтактні морські свинки	Контроль	10	21,1±0,8
Тварини з ЕАА	1-а доба	10	24,3±0,7 P<0,05
	14-а доба	10	26,9±0,6 P<0,05
	24-а доба	10	33,8±0,5 P<0,05

Примітка. P — достовірність різниці значень параметрів при ЕАА порівняно з показниками групи інтактних тварин

За результатами даного дослідження, ЕАА супроводжується поступовим підвищенням метаболітів вільнорадикального окиснення, найвираженішим в пізні періоди (14-а, 24-а доби) імунокомплексної патології [30].

Надмірна потужність перебігу перекисного окиснення спричинила відхилення характерних рис функціонування ферментативного і неферментативного антиоксидантних механізмів протекції.

Було розпочато дослідження ферментативного компоненту АОС при ЕАА з визначення в легенях СОД, знешкодуючої надлишок вільнорадикальних продуктів окиснення (МДА, ДК), що здійснює захисний ефект.

У 1-у добу ЕАА відзначено в легенях неістотне зростання відносно групи контролю СОД на 5,4% ($P < 0,05$) як компенсаторне явище, що вмикається задля вилучення надміру токсичних метаболітів ПОЛ (табл. 6.3; рис. 6.1) [30].

Зниження СОД відносно першої групи тварин на 19,2% і 27,5% ($P < 0,05$) зафіксовано в легенях відповідно на 14-у і 24-у доби відтворення імунокомплексної патології (табл. 6.3; рис. 6.1) [30].

Таблиця 6.3. - Активність СОД в легенях в динаміці розвитку ЕАА ($M \pm m$)

Група дослідних тварин	Термін від початку моделювання АА в добах	Кількість піддослідних тварин	СОД в у.о./(Γ)
Інтактні морські свинки	Контроль	10	127,6 \pm 3,8
Тварини з ЕАА	1-а доба	10	134,6 \pm 4,2 $P < 0,05$
	14-а доба	10	103,1 \pm 3,4 $P < 0,05$
	24-а доба	10	92,5 \pm 3,1 $P < 0,05$

Примітка. P — достовірність різниці значень параметрів при ЕАА порівняно з показниками групи інтактних тварин

Однонаправлену динаміку відхилень з СОД було виявлено з боку іншого ензиму супероксиддисмутази аніоксидантної ферментативної системи — КТ, однак в дебюті формування ЕАА (1-а доба) було встановлено неістотне зростання активності КТ в легенях на 7,9% ($P < 0,05$) компенсаторного характеру проти групи інтактних тварин (табл. 6.4; рис. 6.1) [30].

Таблиця 6.4. - Активність каталази в легенях в динаміці розвитку ЕАА ($M \pm m$)

Група дослідних тварин	Термін від початку моделювання АА в добах	Кількість піддослідних тварин	КТ в м.о./г
Інтактні морські свинки	Контроль	10	46,8±2,5
Тварини з ЕАА	1-а доба	10	50,5±1,7 $P < 0,05$
	14-а доба	10	35,1±1,6 $P < 0,05$
	24-а доба	10	24,2±1,5 $P < 0,05$

Примітка. P — достовірність різниці значень параметрів при ЕАА порівняно з показниками групи інтактних тварин

Таблиця 6.5. - Вміст ЦП в легенях в динаміці розвитку ЕАА ($M \pm m$)

Група дослідних тварин	Термін від початку моделювання АА в добах	Кількість піддослідних тварин	ЦП мг/л
Інтактні морські свинки	Контроль	10	25,7±0,7 3
Тварини з ЕАА	1-а доба	10	26,0±0,7 3 $P > 0,05$
	14-а доба	10	19,1±1,1 2

			P<0,05
	24-а доба	10	17,9±0,8 P<0,05

Примітка. P — достовірність різниці значень параметрів при ЕАА порівняно з показниками групи інтактних тварин

Надалі зареєстровано в легенях значне зменшення в порівнянні з групою інтактних морських свинок КТ на 14-у і 24-у доби прогресування ЕАА — на 25,0% і 48,2% (P<0,05) відповідно (табл. 6.5; рис. 6.1), що може свідчити про інгібування ферментативної складової антиоксидантної протекції [30].

Крім двох показників ферментативної АОС, вивчали також при ЕАА рівень ЦП в легенях, який належить до маркерів неферментативної частини АОС. Зокрема, концентрація ЦП в легенях на 14-у і 24-у доби розвитку ЕАА була зниженою проти контролю відповідно на 25,6%, 30,3% (P<0,05) [30]. В той же час на 1-у добу ЕАА не було помічено в легенях вірогідних зрушень ЦП — параметр був статистично співмірним з такими у інтактної групи (табл. 6.5; рис. 6.1) [30].

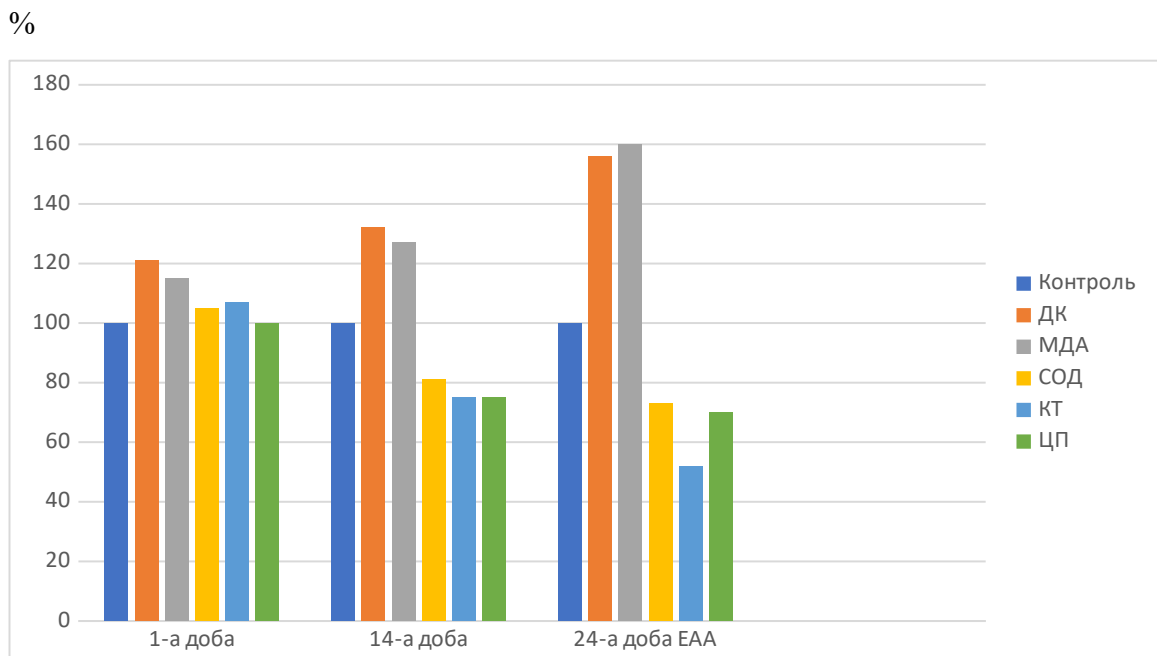


Рисунок 6.1. - Особливості змін показників ПОЛ і АОС у легенях морських свинок в динаміці формування ЕАА (у % від контролю).

Таким чином, здійснені комплексні біохімічні експерименти засвідчили наростання в легенях продуктів ПОЛ проти зниження маркерів роботи компонентів антиоксидантних протективних систем, особливо на 14-у і 24-у доби ЕАА, що слугувало доказом прогресування оксидантного стресу, що надає прогредієнтних властивостей вказаній патології [30].

6.2. Зрушення перекисного окиснення ліпідів і антиоксидантних систем в легенях при іммобілізаційному стресі

Залежно від стадії розвитку стресу (тривоги, резистентності і виснаження), що еквівалентно 1-ій, 14-й і 24-й добі експерименту, відносно групи контролю було констатовано в гомогенаті легень збільшення ДК на 58,4%, 46,4%, 47,2% ($P < 0,05$) відповідно (табл. 6.6; рис. 6.2) [30].

Таблиця 6.6. - Дієнові кон'югати при моделюванні ІС в легенях ($M \pm m$)

Група дослідних тварин	Термін після моделювання ІС в добах	Кількість піддослідних тварин	ДК в нмоль/(г)
Інтактні морські свинки	Контроль	10	12,5±0,4
Тварини з ІС	1-а доба	10	19,8±0,3 $P < 0,05$
	14-а доба	10	18,3±0,5 $P < 0,05$
	24-а доба	10	18,4±0,5 $P < 0,05$

Примітка. Р — достовірність різниці значень параметрів при ІС порівняно з показниками групи інтактних тварин

Внаслідок проведення біохімічних досліджень на 1-у, 14-у, 24-у доби від експериментальної постановки ІС відносно показників контрольної групи морських свинок було підтверджено в легенях постійне наростання МДА на 54,4%, 43,1% і 36,9% ($P < 0,05$) відповідно (табл. 6.7; рис. 6.2) [30].

Встановлено підвищення СОД в легенях на 1-у добу ІС всього на 6,4% разом зі статистично достовірним зменшенням проти інтактних тварин у 14-у і 24-у доби на 20,6% і 26,8% ($P < 0,05$) відповідно (табл. 6.8; рис. 6.2) [30].

Таблиця 6.7. - Малоновий діальдегід за прогресування ІС гомогенату легень морських свинок ($M \pm m$)

Група дослідних тварин	Термін після моделювання ІС в добах	Кількість піддослідних тварин	МДА в нмоль/(г)
Інтактні морські свинки	Контроль	10	21,1±0,8
Тварини з ІС	1-а доба	10	32,6±0,5 $P < 0,05$
	14-а доба	10	30,2±0,5 $P < 0,05$
	24-а доба	10	28,9±0,6 $P < 0,05$

Примітка. P — достовірність різниці значень параметрів при ІС порівняно з показниками групи інтактних тварин

Таблиця 6.8. - Активність СОД в легенях в динаміці розвитку ІС ($M \pm m$)

Група дослідних тварин	Термін після моделювання ІС в добах	Кількість піддослідних тварин	СОД в у.о./(г)
Інтактні морські свинки	Контроль	10	127,6±3,8
Тварини з ІС	1-а доба	10	135,8±4,2 $P < 0,05$
	14-а доба	10	101,2±3,4 $P < 0,05$
	24-а доба	10	93,4±3,1 $P < 0,05$

Примітка. P — достовірність різниці значень параметрів при ІС порівняно з показниками групи інтактних тварин

Вимірювання КТ на стадії тривоги (1-а доба) стресу в порівнянні з інтактною групою підтвердило в легенях стримане її підвищення на 9,4% поряд зі зниженням на 27,3% і 45,2% ($P < 0,05$) в стадії резистентності і виснаження (14-а і 24-а доби) відповідно як ознака компенсаторних властивостей ензиму, що змінюються його функціональним знесиленням (табл. 6.9; рис. 6.2) [30].

Таблиця 6.9. - Активність каталази в легенях в динаміці розвитку ІС ($M \pm m$)

Група дослідних тварин	Термін після моделювання ІС в добах	Кількість піддослідних тварин	КТ в м.о./(Γ)
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$46,8 \pm 2,5$
Тварини з ІС	1-а доба	10	$51,2 \pm 1,7$ $P < 0,05$
	14-а доба	10	$34,0 \pm 1,6$ $P < 0,05$
	24-а доба	10	$25,6 \pm 1,5$ $P < 0,05$

Примітка. P — достовірність різниці значень параметрів при ІС порівняно з показниками групи інтактних тварин

Як засвідчують результати досліджень, зростала ініціація ферментативної фракції антиоксидантних механізмів протекції в стадії тривоги стресу в легенях, тоді як у стадіях його резистентності і виснаження здійснювалось значиме спадання її активності, що демонструвало явище оксидативного стресу.

З метою більш повноцінної характеристики стану антиоксидантної системи було також в гомогенаті легень досліджено при ІС ЦП як неферментативного складника АОЗ.

На 1-у добу ІС спостерігалось в легенях зростання ЦП на 13,2%, а на 14-у і 24-у - доведено відхилення, коли відносно контрольної групи тварин маркер знижувався відповідно на 29,1% і 29,9% ($P < 0,05$) (табл. 6.10; рис. 6.2) [30].

Таблиця 6.10. - Вміст ЦП в легенях в динаміці розвитку ІС ($M \pm m$)

Група дослідних тварин	Термін після моделювання ІС в добах	Кількість піддослідних тварин	ЦП мг/л
Інтактні морські свинки	Контроль	10	$25,7 \pm 0,73$
Тварини з ІС	1-а доба	10	$29,1 \pm 0,8$ $P < 0,05$
	14-а доба	10	$18,2 \pm 1,1$ $P < 0,05$
	24-а доба	10	$18,0 \pm 1,1$ $P < 0,05$

Примітка. Р — достовірність різниці значень параметрів при ІС порівняно з показниками групи інтактних тварин

%

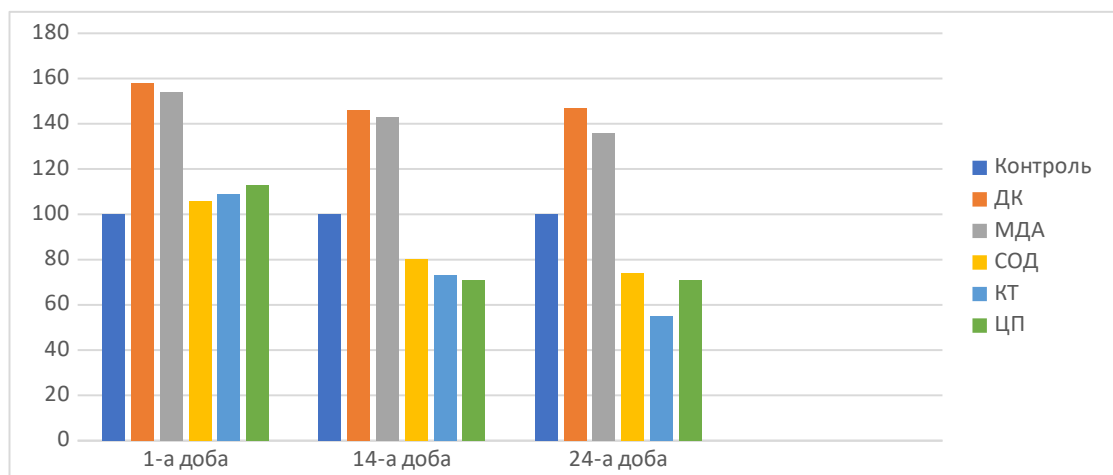


Рисунок 6.2. - Відхилення в легенях морських свинок маркерів АОЗ і ПОЛ в умовах перебігу ІС (% від контролю).

Таким чином, виконані біохімічні експерименти дозволяють стверджувати, що на усіх етапах ІС відбувалося зростання продуктів

ліпопероксидації на тлі виснаження ферментативної і неферментативної складової антиоксидантних систем протекції з домінуванням на 14-у і 24-у доби як свідчення розпалу оксидативного стресу, який очевидно посилював перебіг самого ІС [30].

6.3. Рівні маркерів ПОЛ і АОС у легенях в процесі формування ЕАА і ІС

За обставин формування ЕАА консолідовано з ІС (1-а, 14-а і 24-а доби) проти контролю було виявлено в легенях ступеневе зростання ДК відповідно на 64,8%, 80,0%, 90,4% ($P < 0,05$) (табл. 6.11; рис. 6.3) [30].

Таблиця 6.11. - Дієнові кон'югати в динаміці перебігу ЕАА і ІС в легенях морських свинок ($M \pm m$)

Група дослідних тварин	Термін поєднаного моделювання ЕАА і ІС в добах	Кількість піддослідних тварин	ДК в нмоль/(г)
Інтактні морські свинки	Контроль	10	12,5±0,4
Тварини з ЕАА та ІС до лікування	1-а доба	10	20,6±0,3 $P < 0,05$
	14-а доба	10	22,5±0,2 $P < 0,05$
	24-а доба	10	23,8±0,2 $P < 0,05$

Примітка. P — достовірність різниці значень параметрів при ЕАА та ІС порівняно з показниками групи інтактних тварин

Визначення в легенях кінцевого продукту ПОЛ — МДА, в ході формування ЕАА і ІС (1-а, 14-а і 24-а доби) у порівнянні з першою групою тварин показало його зростання відповідно на 68,7%, 74,8%, 88,6% ($P < 0,05$), що вказувало на надмірне утворення метаболітів ПОЛ на усіх етапах експерименту з перевагою на 24-у добу (табл. 6.12; рис. 6.3) [30].

Отже, підсумовуючи отримані результати досліджень, складається можливість констатувати, що поєднаний ЕАА з ІС зумовлює суттєві порушення

щодо рівня продуктів ПОЛ, як первинних так і вторинних на усіх фазах спостереження з особливим домінуванням цих показників на 24-у добу експерименту та їх токсичну дію на легені і перебіг ІС [30].

Надзвичайно велика активність процесів ліпопероксидації викликали помітні зрушення показників ферментативного (СОД, КТ) і неферментативного (ЦП) складників антиоксидантного захисту при АА і ІС [30].

Таблиця 6.12. - Вміст малонового діальдегіду в легенях морських свинок в різні фази розвитку ЕАА і ІС ($M \pm m$)

Група дослідних тварин	Термін поєднаного моделювання ЕАА і ІС в добах	Кількість піддослідних тварин	МДА в нмоль/(г)
Інтактні морські свинки	Контроль	10	21,1±0,8
Тварини з ЕАА та ІС до лікування	1-а доба	10	35,6±0,5 P<0,05
	14-а доба	10	36,9±0,4 P<0,05
	24-а доба	10	39,8±0,3 P<0,05

Примітка. P — достовірність різниці значень маркерів при ЕАА та ІС проти інтактних тварин

В легенях з перших днів спостереження і надалі (1-а, 14-а, 24-а доба) СОД була достовірно зниженою [30]. Цей ензим проти контрольної групи тварин поступово спадав залежно від фаз дослідження на 27,8%, 34,7% і 44,1% (P<0,05) відповідно як доказ виснаження антиоксидантних протетивних механізмів (табл. 6.13; рис. 6.3) [30].

Таблиця 6.13. - Активність СОД в легенях в динаміці розвитку ЕАА і ІС ($M \pm m$)

Група дослідних тварин	Термін поєданого моделювання ЕАА і ІС в добах	Кількість піддослідних тварин	СОД в у.о./(Γ)
Інтактні морські свинки	Контроль	10	127,6 \pm 3,8
Тварини з ЕАА та ІС до лікування	1-а доба	10	92,1 \pm 3,1 P<0,05
	14-а доба	10	83,2 \pm 2,9 P<0,005
	24-а доба	10	71,3 \pm 2,8 P<0,005

Примітка. P — достовірність різниці значень параметрів при ЕАА та ІС порівняно з показниками групи інтактних тварин

Таблиця 6.14. - Активність каталази в легенях в ході ЕАА і ІС ($M \pm m$)

Група дослідних тварин	Термін поєданого моделювання ЕАА і ІС в добах	Кількість піддослідних тварин	КТ в м.о./(Γ)
Інтактні морські свинки	Контроль	10	46,8 \pm 2,5
Тварини з ЕАА та ІС до лікування	1-а доба	10	24,1 \pm 1,5 P<0,05
	14-а доба	10	22,4 \pm 1,4 P<0,005
	24-а доба	10	21,0 \pm 1,2 P<0,005

Примітка. P — достовірність різниці значень параметрів при ЕАА та ІС порівняно з показниками групи інтактних тварин

У гомогенаті легень було виявлено на 1-у, 14-у і 24-у доби моделювання ЕАА в умовах експериментальної постановки ІС відносно значень першої групи тварин поетапне зменшення активності КТ на 48,5%, 52,1%, 55,1% ($P < 0,05$) відповідно, що являється якісною ознакою неспроможності засобів антиоксидантної протекції утилізувати надлишкові продукти вільнорадикального окиснення (табл. 6.14; рис. 6.3) [30].

Під час усіх фаз формування в легенях ЕАА і ІС (1-а, 14-а, 24-а доба) спостерігалось проти контролю чітко виражене спадання ЦП відповідно на 31,5%, 40,8%, 44,3% ($P < 0,05$) (табл. 6.15; рис. 6.3), засвідчуючи ослаблення неферментативного компоненту антиоксидантних факторів захисту [30].

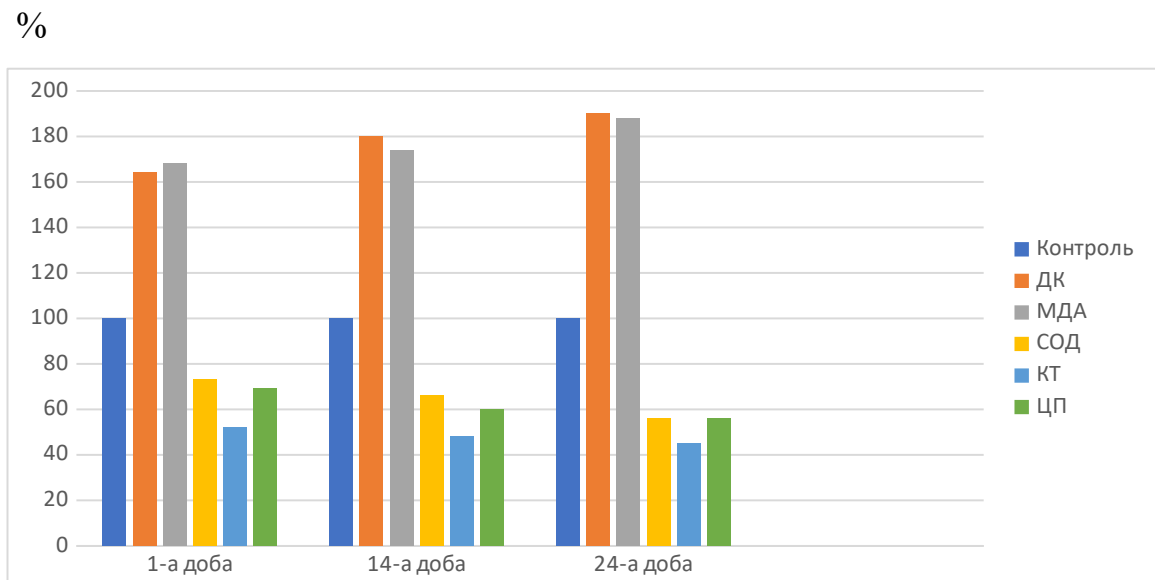


Рисунок 6.3. - Особливості змін показників ПОЛ і АОС легенях в динаміці розвитку ЕАА і ІС (% від контролю).

Отже, проводячи аналіз одержаних результатів комплексних біохімічних експериментів можна висловити думку про те, що ЕАА асоційований з ІС зумовлює більш суттєві відносно контролю зміни процесів ПОЛ і АОС, ніж ізольовано, які проявляються більш прогресивним розвитком оксидативного стресу [30].

Таблиця 6.15. - Вміст ЦП в легенях в динаміці розвитку при ЕАА і ІС (M±m)

Група дослідних тварин	Термін поєднаного моделювання ЕАА і ІС в добах	Кількість піддослідних тварин	ЦП мг/л
Інтактні морські свинки	Контроль	10	25,7±0,73
Тварини з ЕАА та ІС до лікування	1-а доба	10	17,6±1,1 P<0,05
	14-а доба	10	15,2±1,0 P<0,05
	24-а доба	10	14,3±0,9 P<0,05

Примітка. P — достовірність різниці порівняно з показниками інтактних тварин значень маркерів при ЕАА та ІС

Враховуючи проведені комплексні дослідження маркерів ПОЛ і АОС (МДА, ДК, ЦП, КТ, СОД) показали відносно контролю, особливо на 24-у добу експерименту, розпал вираженого оксидантного стресу на ґрунті ослаблення антиоксидантних протективних механізмів і зростання продуктів ПОЛ в усі моменти розвитку ЕАА з ІС, що посилював і ускладнював перебіг алергічного альвеоліту та стресу [30].

6.4. Вплив тіотриазоліну і корвітину на значення параметрів ПОЛ і АОС в легенях при ЕАА і ІС

Застосування тіотриазоліну разом з корвітином в легенях спричинило на 24-у добу експериментальної постановки ЕАА і ІС проти даної групи тварин без корекції цими лікарськими засобами зниження ДК на 29,8%, МДА — на 16,1% та підвищення СОД, КТ і вмісту ЦП на 45,0% (P<0,05), 80,4% (P<0,05) і 50,3% (P<0,05) відповідно (табл. 6.16; рис. 6.3) [30].

Застосування лише корвітину при АА і ІС призводило відносно групи тварин з ЕАА і ІС на 24-у добу експерименту, у якій введення даного лікарського засобу не здійснювалось, в легенях до зниження ДК і МДА відповідно на 19,7% і 24,6% ($P < 0,05$), зростання КТ, СОД і ЦП на 38,5%, 27,6% і 24,4% ($P < 0,05$) відповідно [30].

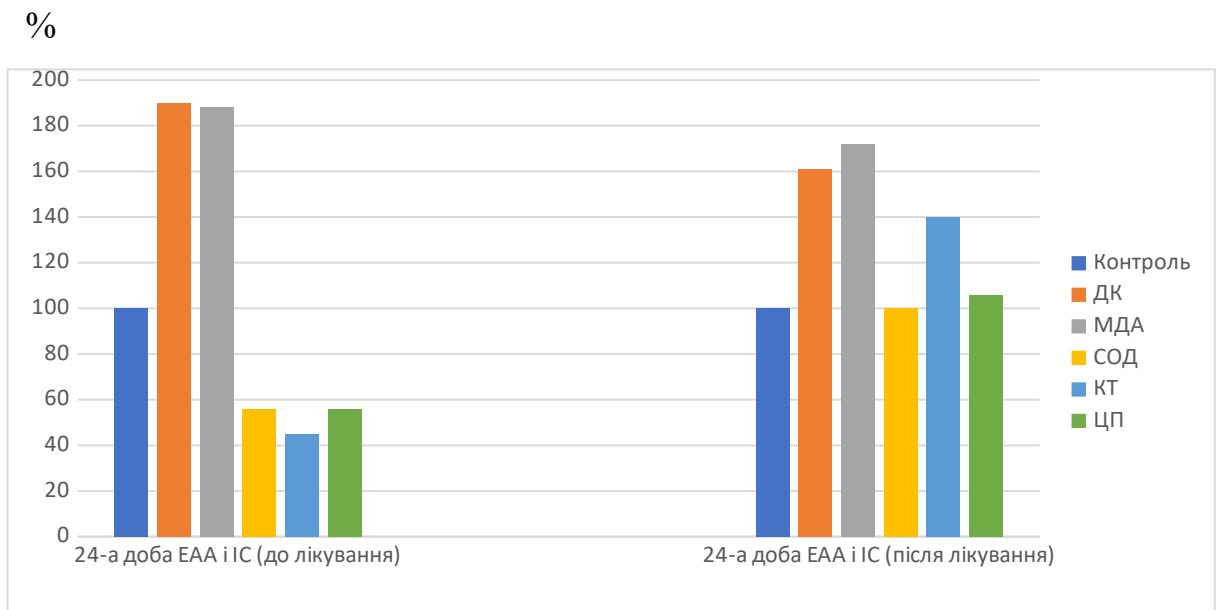


Рисунок 6.4. - Вплив тіотриазоліну і корвітину на показники ПОЛ і АЛОС в легенях при ЕАА і ІС на 24-у добу експерименту (% порівняння до та після лікування).

Отже, отримані результати досліджень вказують на більшу антиоксидантну дію тіотриазоліну і корвітину у їх злагодженому введенні, ніж за умов здійснення ін'єкцій лише корвітину на порушені показники про- і антиоксидантних систем за умов формування ЕАА і ІС, та доводять доцільність їх застосування і перспективність, у вигляді як продовження детальнішого аналізу їх механізмів дії у експерименті, так і подальшого простежування їх ефективності у сфері клінічної медицини [30].

Таблиця 6.16. - Вплив тіотриазоліну і корвітину на порушені показники ПОЛ і АОС в легенях при ЕАА і ІС ($M \pm m$)

Група дослідних тварин	Термін поєднаного моделювання ЕАА і ІС в добах	Кількість тварин	ДК в нмоль / (г)	МДА в нмоль/ (г)	СОД в у.о. / (г)	КТ в м.о./ (г)	ЦП мг/л
Інтактні морські свинки	Конт- роль	10	12,5± 0,4	21,1± 0,8	127,6 ± 3,8	46,8 ± 2,5	25,7 ± 0,73
Тварини з ЕАА та ІС на 24-у добу (без застосування лікарських засобів)	24-а доба	10	23,8± 0,2 P<0,0 5	39,8± 0,3 P<0,05	71,3± 0,5 P<0,0 5	21,0 ± 1,2 P<0, 05	14,3 ± 0,9 P<0, 05
Тварини з ЕАА та ІС на 24-у добу (після застосування тіотриазоліну і корвітину)	24-а доба	10	16,7± 0,4 P<0,0 5 P ₁ <0,0 5	24,5± 1,2 P<0,05 P ₁ <0,0 5	103,4 ± 0,3 P<0,0 5 P ₁ <0, 05	37,9 ± 2,3 P<0, 05 P ₁ <0 ,05	21,5 ± 1,1 P<0, 05 P ₁ <0 ,05
Тварини з ЕАА та ІС на 24-у добу (після застосування корвітину)	24-а доба	8	19,1± 0,3 P<0,0 5 P ₂ <0,0 5	30,0± 0,4 P<0,05 P ₂ <0,0 5	91,0± 0,4 P<0,0 5 P ₁ <0, 05	29,1 ± 1,1 P<0, 05 P ₁ <0 ,05	17,8 ± 1,1 P<0, 05 P ₁ <0 ,05

Примітка 1. p – достовірність різниці ІС і ЕАА з результатами у контрольній групі;

Примітка 2. p_1 – достовірність різниці у разі зіставлення параметрів (на 24-у добу ІС і ЕАА) без та після здійснення ін'єкцій корвітину і тіотриазоліну.

Примітка 3. p_2 – достовірність різниці у разі зіставлення параметрів (на 24-у добу ІС і ЕАА) без та після здійснення ін'єкцій корвітину.

На основі одержаних результатів біохімічних досліджень було зроблено такі проміжні висновки:

1. ЕАА супроводжується поступовим збільшенням в легенях накопичення продуктів ПОЛ на усіх етапах експерименту, що на початкових фазах формування оксидативного стресу певним чином покривалось підвищенням відносно контрольної групи тварин протективного характеру КТ, СОД і ЦП на 1-у добу експерименту, з наступним стійким їх спаданням на 14-у і 24-у доби експерименту [30].

2. На усіх фазах (1-а, 14-а, 24-а доби) ІС проти інтактної групи тварин зафіксовано в легенях стійке накопичення продуктів ПОЛ та збільшення антиоксидантно-протективних ферментів і ЦП на 1-у добу з подальшим прогресивним спаданням СОД, КТ і ЦП (на 14-у і 24-у доби) [30].

3. Впродовж усіх етапів розвитку ЕАА поєданого з ІС (1-а, 14-а, 24-а доби) спостерігалось послідовне підвищення, як первинних так і кінцевих продуктів ліпопероксидації на тлі суттєвого зниження активності СОД, КТ і рівня ЦП в легенях при порівнянні з першою групою тварин, що вказувало на формування оксидантного стресу [30].

4. Поєдане застосування тіотриазоліну і корвітину спричиняло більш антиоксидантний вплив ніж за умов окремого використання корвітину на порушені показники оксидантної і антиоксидантної системи, а саме зниження вмісту ДК і МДА та підвищення активності СОД, КТ та рівня ЦП в легенях проти групи тварин з ЕАА і ІС на 24-у добу експерименту до лікування [30].

Результати шостого розділу дисертації відображені в наступних наукових працях [30].

РОЗДІЛ 7

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

До теперішнього часу зберігається актуальність і значна потреба у більш глибокому вивченні сутності патогенезу, специфіки діагностики і лікування екзогенного алергічного альвеоліту (ЕАА), так як кількість випадків цього захворювання перманентно зростає, виникають серйозні ускладнення і дана патологія важко піддається лікуванню.

Серед усіх випадків інтерстиційних захворювань легень у світі частка гіперчутливого пневмоніту в середньому коливається в межах 1,5-13%, досягаючи в Індії 47%, що суттєво залежить від професійних факторів і стану навколишнього середовища [235, 239, 292]. Але у 50% випадків діагнози ЕАА встановлюються помилково, а в 20-60% пацієнтів причину розвитку алергічного альвеоліту встановити не вдається [53, 239, 261, 281].

Поширеність екзогенного алергічного альвеоліту сягає менше 2 на 100 тисяч осіб [292]. Щорічна захворюваність у США становила 1,3-2,7 на 100 тисяч населення [45, 106, 230]. За іншими даними, показники поширеності екзогенного алергічного альвеоліту за 1 рік сягала від 1,67 до 2,71 на 100 000 осіб [239, 292]. Спостерігалось зростання значень даного показника з віком — від 0,95 на 100 тис. серед дітей віком від 0-9 років до 11,2 на 100 тис. серед осіб віком 65 років і старше [65, 127].

Поширеність хвороби серед дітей — 4 випадки на 1 млн., а захворюваність — 2 випадки на рік, загалом — 0,36 на 100 тис. дитячого населення на рік [22, 207, 305]. Варто зазначити, що у 25% дітей простежується сімейний анамнез захворювання, асоційований з локусами HLA-DR7, HLA-B8, HLA-DQw3 [207].

Захворюваність на алергічний альвеоліт у світі коливається від 0,3 до 0,9 випадків на 100 000 жителів або 0,9-2,71 на 100 тисяч людино-років, відрізняючись у населення різних країн: у Швеції — 20 випадків на 100 тисяч людино-років, у Данії — 1-3 на 100 тисяч осіб на рік, у США — 1,3-2,7 на 100

тисяч осіб, у Японії — 0,3-0,9 випадків на 100 тисяч осіб на рік, до 30 на 100 тисяч осіб на рік в Нью-Мексико [45, 53, 65, 80, 106, 227, 230, 234, 239]. У Великобританії щорічна захворюваність сягала до 1 на 100 тисяч, а кумулятивний рівень захворюваності коливався в межах 1,28-1,94 на 100 тис. осіб [127, 151, 292, 303]. Смертність від цього захворювання досягає 0,29 випадків на 1 млн. населення у віці старше 15 років [53].

Зважаючи на сучасні виклики психологічного перевантаження у зв'язку з професійною діяльністю та навчанням, проблемами працевлаштування, репродукції, військовими діями, епідеміями, традиціями суспільства (соціальними, гендерними, сімейно-побутовими, харчовими, естетичними та ін.), а у країнах третього світу — в тому числі, несприятливими умовами проживання та неякісним харчуванням, психологічні розлади, такі як тривога, депресія та стрес, турбують приблизно 31-41% населення планети [51]. Згідно з іншими джерелами, майже 70% населення живе в умовах хронічного психосоціального стресу середньої та високої інтенсивності [300].

Підтверджено значення навчання у розвитку стресу: так, 34% опитаних студентів коледжу в Іспанії підтвердили наявність у себе стресу, як і 34,3% студентів Джазанського університету у Саудівській Аравії, 52,7% студентів Пенджабського університету у Пакистані, 53% студентів медичного факультету університету Фейсала в Саудівській Аравії, 40,4% студентів університету Арсі в Ефіопії, студентів-фармацевтів у Нігерії — 35%, студентів стоматологічних коледжів у Індії — близько 44% [40, 44, 48, 50, 222, 243, 279]. Поширеність сильного відчуття стресу серед студентів сягає в середньому 12,7% [49]. Варто підкреслити, що стрес у 71% студентів був зумовлений сприйняттям навчання важчим, ніж ними очікувалось [124]. Поширеність стресу серед учнів середньої школи в Іраку становила 51,1%, в Малайзії — 44,9%, Саудівській Аравії — 52,5% [222].

Значення професійної діяльності як причини стресу висвітлено у дослідженні Тегеранського Університету Медичних Наук, де показано, що 33,8% медичного

персоналу мали важкий стрес, тоді як серед медсестер швидкої допомоги у Нідерландах — 15,7%, в Ірландії — 64%, у Йорданії — 52,3%, медсестер паліативної допомоги у Польщі — 38,9%, 13% фельдшерського персоналу у США [122, 229, 307]. Поширеність стресу серед лікарів екстренної медичної допомоги сягав 12,7% у США, 14,5% у Бельгії, 15,4% у Пакистані та 16,8% у Німеччині [116]. Зважаючи на щоденне відвідування закладів харчування понад 2,5 мільярдами населення, поширеність стресу серед офіціантів становить приблизно 34,4% [259]. Даний показник у педагогічних працівників коливався в межах 8,3-87,1%, в тому числі у країнах Європи — 10-40%, зокрема у Німеччині — у 22%, у Нігерії — 72,2%, в Ефіопії — 58,2%, в Малайзії — 32,3% (в тому числі важкий стрес — 7%) [39, 172, 317].

Поширеність серед осіб, що опинились в зоні військових дій, за даними різних досліджень коливалась в межах 3,9-69%, в середньому сягаючи 23,5%: серед військових — 21,3%, тоді як серед цивільного населення — 25,7% [195]. Дані одного з досліджень свідчать, що поширеність стресу серед біженців, які прибули до Німеччини, становила 34,9%, до Швейцарії — 32,8%, до Австралії — 29,5%, до Італії — 30% [114, 224]. Серед бездомних людей стрес спостерігають в середньому у 27,38% випадків [57]. Поширеність стресу серед батьків госпіталізованих дітей віком до 1 року — 24,5%, після року — 27,1%, а серед біологічних матерів, що перебувають у законодавчій системі захисту дітей — приблизно 26%, батьків — 13% [202].

Нині уже відомі причини формування алергічного альвеоліту і стресу, проте патогенез їх розвитку, особливо при їх поєднанні, до кінця не з'ясований.

А саме: не вивчено особливості порушень імунної системи, цитокінового статусу, прооксидантно-антиоксидантних систем, системи оксиду азоту в легенях та крові в процесі перебігу експериментального алергічного альвеоліту в умовах впливу іммобілізаційного стресу (1-а, 14-а, 24-а доби) без та після застосування тіотриазоліну в поєднанні з корвітином.

Тому метою даного дослідження було встановлення значення прогресування метаболічних та імунних відхилень у патогенезі експериментального алергічного альвеоліту на тлі іммобілізаційного стресу, і охарактеризувати ступінь коригуючої дії поєданого вживання тіотриазоліну і корвітину.

Було поставлено і вирішено відповідно до мети дисертації п'ять завдань дослідження, які детально описані у вступі.

У дисертаційній роботі були проведені дослідження на 118 (самцях) морських свинках, які розподіляли на п'ять груп [24, 25, 26, 27, 28, 29, 30]. Перша група – (контроль) інтактні тварини (10) [24, 25, 26, 27, 28, 29, 30]. Друга група – морські свинки з ЕАА (30), включаючи три підгрупи, де тварин, щодо яких не застосовували експериментального введення лікарських засобів, відповідно було декапітовано на 1-у, 14-у і 24-у доби [24, 25, 26, 27, 28, 29, 30]. Третя група – тварини з ІС (30), що складалась з трьох підгруп, де тварин, щодо яких не проводилось жодного експериментального введення лікарських засобів, відповідно було декапітовано на 1-у, 14-у і 24-у доби [24, 25, 26, 27, 28, 29, 30]. Четверта група морських свинки з ЕАА та ІС (30) містила три підгрупи, кожна з яких було декапітовано у вищевказані терміни і не здійснювалось жодного експериментального використання лікарських засобів [24, 25, 26, 27, 28, 29, 30]. П'ята група — морські свинки з ЕАА та ІС (18), що були виведені з експерименту на 24-у добу після попереднього застосування фармакологічних препаратів, мала в своєму складі дві підгрупи: у першій з яких внутрішньом'язово вводили тіотриазолін (виробництва ПАТ «Галичфарм») у дозі 50 мг/кг щоденно в комбінації з внутрішньоочеревинним введенням корвітину (виробництво «Борщагівський хіміко - фармацевтичний завод») у дозі 40 мг/кг впродовж 11 днів (з 14-ї по 24-у доби), тоді як у другій щодо тварин з ЕАА і ІС було щоденно застосовано лише корвітин з 14-ої по 24-у доби внутрішньоочеревинно у дозі 40 мг/кг [24, 25, 26, 27, 28, 29, 30].

Були обрані фіксовані доби для проведення експерименту і декапітації, що відповідали стадіям розвитку стресу: 1 доба – стадія тривоги, що триває до 4 діб; 14 доба – резистентності, яка розвивається з 5 по 14 доби; 24 доба – стадія виснаження, що виникає з 15 доби формування стресу та формування ЕАА шляхом імунізації (ведення повного ад'юванта Фрейнда і БЦЖ) тварин на 1-у, 14-у і 24-у доби [24, 25, 26, 27, 28, 29, 30]. Для виведення тварин з експерименту було використано метод декапітації після попереднього внутрішньоочеревинного введення налбуфіну гідрохлориду (ТОВ «Юрія-Фарм», Україна) в дозуванні 182 мг/кг. Декапітували інтактні морські свинки і тварини на 1, 14, 24-у доби розвитку ЕАА та ІС під налбуфіновим наркозом і забирали кров, легені для біохімічних, імунологічних та імуноферментних досліджень [24, 25, 26, 27, 28, 29, 30].

У літературі відсутні дослідження, які стосуються порушень імунного статусу при ЕАА і ІС. Тому, першим етапом даного дослідження було вивчення особливостей змін імунної системи при поєднаному експериментальному моделюванні алергічного альвеоліту і іммобілізаційного стресу та ефективності коригування виявлених відхилень корвітином і тіотриазоліном [24].

Загалом відомо, що Т- і В-лімфоцити є основними клітинами імунної системи, що здатні забезпечувати захист організму від чужорідних антигенів різними шляхами, що залежить від характеру та структури самого агента носія антигена та його локалізації: так, вільно розташовані в тканинах або крові антигени знешкоджуються завдяки продукції антитіл В-лімфоцитами, в крайньому своєму прояві спричиняючи розвиток реакцій гіперчутливості перших трьох типів за Джеллом та Кумбсом, тоді як Т-лімфоцити реалізують клітинний імунітет у відповідь на антигени, що не можуть знешкодитись системою мононуклеарних фагоцитів та ті, що знаходяться всередині клітини, за рахунок цитокіногенезу або як Т-цитотоксичні клітини, що в крайньому прояві переходить IV тип алергічних реакцій за Джеллом та Кумбсом як

гіперчутливість сповільненого типу і опосередкована Т-лімфоцитами цитотоксичність відповідно [1].

Отже, як видно з вищенаведеного, імунна система відіграє важливу роль в організмі і може зазнавати суттєвих порушень при різних захворюваннях у тому числі при ЕАА та стресі. На окремому прикладі патогенезу алергічного альвеоліту вже доведено, що в основі розвитку захворювання лежать надмірні відхилення з боку імунної системи саме такого характеру, які виявляються реакціями гіперчутливості III та IV типів, тоді як стрес здійснює свій ефект на імунну систему завдяки відповідним модифікаціям нейроендокринної регуляції функціонування лейкоцитів [1, 9, 22, 31, 55, 235, 250].

Враховуючи вказане вище, метою даного дослідження стало встановлення характеру зрушень параметрів функціонування імунної системи при ЕАА ізольовано і в поєднанні з ІС без введення будь-яких лікарських засобів та після експериментального використання тіотриазоліну і корвітину [24].

А саме вивчали характерні риси відхилень в крові окремих показників імунної системи (Т-, В-лімфоцитів і ЦК) у ході експериментального прогресування алергічного альвеоліту на 1-у, 14-у і 24-у доби [24]. Досліджування було розпочато з визначення Т-лімфоцитів у крові, при чому було показано, що проти відповідного значення інтактних тварин даний маркер на 1-у добу ЕАА істотно не відрізнявся, однак встановлено на 14-у і 24-у доби ЕАА поступове його зменшення [24].

Отримані результати експериментів дозволяють стверджувати про те, що ЕАА викликає закономірне послаблення клітинного складника імунітету, домінуюче на 14-у і 24-у доби [24].

На ранніх фазах розвитку ЕАА не спостерігалось достовірних змін щодо концентрації В-лімфоцитів крові проти контролю, що продемонстровано даними, зафіксованими на 1-у добу [24].

Проте пізніше, на 14-у і 24-ту доби ЕАА зумовлював не лише тенденцію, але і помітне збільшення вмісту В-лімфоцитів у крові порівняно з показниками групи контролю [24].

Незважаючи на вагоме значення вивчення системи В-лімфоцитів, для більш всебічної характеристики функціонування гуморальної ланки імунітету, варто враховувати суттєве значення ролі загальних циркулюючих імунних комплексів, що обумовило проведення аналізу даного параметра імунної системи у крові при моделюванні ЕАА [24]. Було констатовано поетапне зростання вмісту ЦІК в крові при ЕАА на 1-у, 14-у і 24-у доби відносно контрольних величин, що свідчило про участь одного з важливих імунокомплексних механізмів (ІІІ тип) пошкодження клітин в патогенезі розвитку алергічного альвеоліту [24].

Отже, проведені комплексні дослідження маркерів імунного гомеостазу в крові на різних етапах формування ЕАА показало виявлення схильності до спадання рівня Т-лімфоцитів в поєднанні з прогресуючим підвищенням В-лімфоцитів і ЦІК, особливо на 14-у і 24-у доби експерименту відносно показників контрольної групи [24].

Результатами даного дослідження було підтверджено наявність тенденції до поетапного послаблення активності клітинної та посилення гуморальної ланки імунної системи за умов експериментальної постановки ЕАА, з максимальним переважанням зазначених відхилень на 24-у добу експерименту, поряд з встановленням відсутності суттєвих зрушень з боку рівня Т і В-лімфоцитів крові на початку експерименту (1-а доба) відносно відповідних параметрів групи інтактних морських свинок [24].

Вищевказаного характеру відхилення Т-, В-лімфоцитів і ЦІК відзначено в ході дослідження на 1-у, 14-у і 24-у його у результаті прогресування змодельованого експериментально іммобілізаційного стресу [24]. Доби досліджень підібрано співвідносно стадіям стресу – тривоги, резистентності і

виснаження. Відзначено в порівнянні з першою групою тварин безперервне зниження у крові Т-лімфоцитів на 1-у, 14-у і 24-у доби ІС [24].

Отримані нами результати досліджень дозволяють стверджувати про те, що стрес зумовлює розвиток клітинного імунодефіциту, який був найбільше виражений на 1-у добу експерименту відносно контролю [24].

Визначення іншого показника, за яким характеризували ступінь порушень гуморального імунітету, був рівень В-лімфоцитів при ІС. Було виявлено, що на усіх періодах (1-а, 14-а, 24-а доба) розвитку ІС спостерігалось зростання вмісту В-лімфоцитів у крові відповідно проти інтактної групи морських свинок, що свідчило про стимуляцію гуморальної ланки імунітету і участь В-клітин в патогенезі розвитку стресу [24].

Важливе значення для характеристики патогенезу ІС мають визначення ЦіК в крові. Встановлено, що в динаміці ІС (1-а, 14-а, 24-а доби) відбувалося постійне підвищення вмісту ЦіК в крові в порівнянні з відповідними показниками у групі інтактних морських свинок [24].

Отже, підсумовуючи отримані нами результати досліджень можна констатувати, що ІС спричиняє суттєві порушення імунного гомеостазу, які проявлялися пригніченням клітинного в умовах стимуляції гуморального імунітету з особливою перевагою на 1-у добу експерименту відносно показників контрольної групи тварин [24].

Літературні джерела вказують на те, що зміни показників імунної системи за умов формування окремих хвороб, зокрема при алергічному альвеоліті та стресі окремо — відомі, проте в їх поєднанні — не з'ясовані, тому метою даного підрозділу було вивчити особливості порушень маркерів імунного гомеостазу за умов поєднання ЕАА з ІС на 1-у, 14-у і 24-у доби експерименту [20, 31, 36, 52, 53, 65, 150, 160, 169, 178, 180, 226, 227, 235, 277, 295, 319].

Було показано, що поєднаний ЕАА та ІС викликають помітні зрушення, як клітинного так і гуморального імунітету. А саме встановлено з перших діб

нашого спостереження і надалі (1-а, 14-а і 24-а доби), що ЕАА і ІС супроводжується суттєвим послідовним зниженням вмісту Т-лімфоцитів у крові проти контролю [24].

Водночас рівень В-лімфоцитів навпаки в крові поступово зростав при ЕАА і ІС (1-а, 14-а і 24-а доби) в порівнянні з групою інтактних тварин, що свідчить про стимуляцію гуморальної ланки імунітету, які переважали на 24-у добу експерименту [24].

Визначення загальних ЦІК в крові в динаміці формування поєданого ЕАА з ІС викликає їх поступове зростання (на 1-у, 14-у і 24-у доби) відносно першої групи тварин. [24]

Одержані нами результати досліджень дають підставу констатувати, що виявлено вищеописані особливості змін зазначених показників, доцільність їх визначення в крові та встановлено їх важливу роль в патогенезі ЕАА і ІС.

Як видно, що ЕАА поєднаний з ІС супроводжується порушеннями показників імунної системи, зокрема помітним підвищенням маркерів гуморальної ланки імунітету в умовах суттєвої депресії клітинного імунітету без лікування [24].

Відомо з літератури, що тіотриазолін виявляє імуномодулюючі, антиоксидантні, протизапальні, антигіпоксичні властивості, тоді як корвітин має мембраностабілізуючу, протизапальну дію, є імуномодулятором [15, 47, 56, 58, 68, 79, 95, 115, 136, 144, 159, 177, 186, 190, 205, 242, 267, 273, 304, 311, 314, 322]. Виходячи з вищенаведеного було доцільним застосування цих препаратів разом за умов ЕАА і ІС, а також використання лише корвітину.

Використання поєданого впливу корвітину та тіотриазоліну призводив до підвищення вмісту Т-лімфоцитів у крові проти групи тварин з ЕАА та ІС на 24-у добу без корекції, що вказувало на їх імунокоригуючу дію даних препаратів [24].

Показано, що поєднаний вплив двох лікарських препаратів – корвітину і тіотриазоліну при ЕАА і ІС зумовлює більш суттєве зниження рівня В-

лімфоцитів у крові і ЦК відносно групи морських свинок з ЕАА і ІС на 24-у добу експерименту ніж окремо застосування корвітину проти групи тварин без застосування цих ліків [24, 31].

Таким чином, проведене нами комплексне імунологічне дослідження в динаміці розвитку ЕАА та ІС зумовлюють суттєві порушення гуморального і клітинного імунітету, та свідчать про патогенетичні закономірності участі Т- і В-лімфоцитів і ЦК в механізмах перебігу цієї імунокомплексної патології та загального адаптаційного синдрому як стрес [24]. Доведено більша імунокоригуюча дія корвітину та тіотриазоліну разом, ніж за окремого використання корвітину на порушений імунний гомеостаз при ЕАА і ІС [24].

На основі фактично отриманих даних був сформульований перший загальний висновок.

Другим етапом нашого дослідження було вивчення стану цитокінового статусу за умов формування експериментального алергічного альвеоліту і іммобілізаційного стресу та корекція його порушень корвітином і тіотриазоліном [26, 27, 28, 29]. Описані результати досліджень показників цитокінового статусу в крові тварин при ЕАА окремо та в їх поєднанні з ІС до та після застосування тіотриазоліну і корвітину.

З цього приводу літературні джерела вказують на те, що цитокинам, як універсальним біорегуляторам міжклітинних взаємодій при імунній відповіді, належить ключова роль у реалізації імунозапальних реакцій. Тому надлишковий синтез прозапальних чи дисбаланс опозиційних пулів цитокінів відіграє важливу роль у патогенезі різних захворювань, переважно алергічного чи запального характеру, у зв'язку із надмірною міграцією до осередку запалення ефektorних клітин, що посилює патоімунний процес і призводить до цитокіноопосередкованого ураження тканинних структур органів, у зв'язку з чим цитокіновий стан сироватки крові має важливе значення для загальної характеристики імунно-запальних процесів різного генезу [1, 31, 61, 76, 100, 167, 174, 176, 183, 238, 278, 291, 297, 306, 310].

У цьому контексті ми досліджували прозапальні (ФНП- α і IL-6) і протизапальні цитокіни (IL-10) в крові у динаміці розвитку ЕАА і ІС на 1-у, 14-у і 24-у доби до та після лікування тіотриазоліном і корвітином [26, 27, 28, 29].

За умов розвитку ЕАА відбувається надходження в організм тварин антигену, який викликає утворення антитіл, а надалі формується імунний комплекс, який активує комплемент, нейтрофіли, макрофаги. Останні спричиняють стимуляцію цитокиногенезу. Тому вивчення прозапального цитокіну, а саме ФНП- α при ЕАА є закономірним та доцільним. Нами встановлено, що в крові ФНП- α на 1-у добу ЕАА ще зберігався в межах даних групи контролю [26]. Разом з тим, відносно першої групи тварин на 14-у і 24-у доби перебігу вказаного захворювання імунокомплексного генезу зауважено в крові цілеспрямоване зростання ФНП- α [26].

Визначення на 14-у і 24-у доби ЕАА іншого прозапального цитокіну, зокрема IL-6 в порівнянні з інтактною групою показало в крові його підвищення, демонструючи чільне місце при даній патології імуннозапального процесу в легенях [26, 28, 29]. Виключенням стали тварини з ЕАА на 1-у добу, де зазначений цитокін не підлягав вірогідним статистичним відхиленням.

Задля оцінки характерного балансу цитокинового статусу простежували в крові окрім прозапальних цитокінів — протизапальний IL-10 [27].

В дебюті ЕАА (1-а доба) в крові не зазначено вагомих зрушень щодо IL-10, що був зафіксованим рівнозначним контрольній групі, коли на 14-у добу ЕАА IL-10 різко спрямовувався в напрямку спадання, на 24-у добу — набував відносно першої групи тварин найбільш чітко окресленого зниження [27].

Таким чином, здійснені нами дослідження цитокинового профілю в динаміці розвитку ЕАА показали незмінність ФНП- α і IL-6, IL-10 в крові на початку (1-а доба) експерименту, а далі (14-у і 24-у доби) їх рівень прозапальних цитокінів поступово зростав у крові на тлі виснаження протизапального цитокіну, що свідчило про активну їх участь в патогенезі АА [26, 27, 28, 29].

Нами було встановлено, що в процесі формування (1-а, 14-а, 24-а доби) ІС відбувалися суттєві порушення цитокінового статусу в залежності від стадії стресу. У стадії тривоги (1-а доба) ІС спостерігалось найбільше підвищення рівня ФНП- α , в той час як у стадії резистентності (14-а доба) і виснаження (24-а доба) тенденція цього показника була аналогічною, тобто зростав у крові відносно контролю [26].

Дослідження ІЛ-6 в крові при ІС на 1-у, 14-у і 24-у доби показало подібний вектор змін, а саме його підвищення в крові проти першої групи тварин, що свідчило про активізацію прозапального цитокіну впродовж усіх етапів нашого дослідження [26, 28, 29].

Аналізуючи отримані результати досліджень можна прийти до такого висновку, що стадія тривоги найбільше виражено впливала на рівень прозапальних цитокінів, а далі в стадію резистентності і виснаження цей процес зберігався з дещо меншими цифрами ІЛ-6, проте зростаючими проти інтактної групи тварин [26, 28, 29].

Докорінно інших змін зазнавав наступний протизапальний цитокін (ІЛ-10), який був помітно зниженим в крові особливо в стадію тривоги, а в інші стадії (резистентності і виснаження – 14-у, 24-у доби) теж зниженим проте дещо меншим в порівнянні з контролем [27].

Таким чином, підсумовуючи отримані нами результати досліджень, можна стверджувати, що стадії стресу суттєво впливають на концентрацію прозапальних так і протизапальних цитокінів з перевагою на першу стадію тривоги (1- а доба) [26, 27, 28, 29]. А саме зростає вміст ФНП- α , ІЛ-6 в умовах зниження рівня ІЛ-10 в крові, крім першої стадії відбувалося в інших стадіях з дещо меншим ступенем активності зазначених маркерів при ІС [26, 27, 28, 29].

Отже, одержані нами дані вказують на різновекторні зміни, а саме посилення активності прозапальних цитокінів на тлі депресії протизапального цитокіну при ІС [26, 27, 28, 29].

Для змодельованого ЕАА в консолідації з ІС порівняно з контролем було очевидним наростання ФНП- α крові на 1-у, 14-у і 24-у доби дослідження [26].

Ідентичним відхиленням відносно інтактної групи тварин піддавався ІЛ-6 у крові, планомірно підвищуючись відповідно на 1-у, 14-у і 24-у доби відтвореного ЕАА з ІС [26, 28, 29].

Отже, як видно з одержаних результатів дослідження, що прозапальні цитокіни достовірно підвищувалися на усіх етапах розвитку ЕАА і ІС з особливою перевагою на 24-у добу експерименту, що може свідчити про активізацію імунноалергічного процесу в легенях в умовах стресу, його прогресування, а також очевидно виникнення різних ускладнень [26, 28, 29].

На противагу прозапальним цитокінам, нами було вивчено особливості змін протизапального цитокіну – ІЛ-10 в крові за умов розвитку ЕАА і ІС [27].

Встановлено, що різні періоди розвитку ЕАА і ІС (1-а, 14-а і 24-а доби) впливають на вміст ІЛ-10 в крові — зазначений маркер був помітно зниженим проти першої групи тварин [27].

Отже, ЕАА поєднаний з ІС зумовлює більш помітні зміни концентрації, як прозапальних так і протизапальних цитокінів у крові, які послідовно зростали зокрема ФНП- α і ІЛ-6 на тлі зниження ІЛ-10 і домінували на 24-у добу експерименту відносно першої групи тварин [26, 27, 28, 29].

Таким чином, як показують результати наших досліджень, що поєднані – ЕАА і ІС спричиняють більш виражений дисбаланс цитокінового профілю, ніж окремо, який має важливе значення для глибокого і ширшого розуміння окремих механізмів їх розвитку і служить основою для обґрунтування і розробки патогенетичної терапії [26, 27, 28, 29].

У попередньому підрозділі дисертації було з'ясовано, що ЕАА поєднаний з стресом зумовлює формування порушення цитокіногенезу, що проявляється підвищенням рівня прозапальних цитокінів на тлі зниження протизапального цитокіну з перевагою на 24-у добу експерименту (без лікування) відносно контролю [26, 27, 28, 29].

Використання тіотриазоліну в поєднанні з корвітином спричиняє більш суттєві зміни ніж за умов застосування корвітину - зниження рівня ФНП- α і IL-6 та підвищення вмісту IL-10 в крові при ЕАА і ІС в порівнянні з групою тварин до корекції на 24-у добу експерименту [26, 27, 28, 29].

Отже, проводячи аналіз одержаних даних можна констатувати, що ЕАА та ІС викликає більш суттєвіший дисбаланс цитокінів впродовж усіх етапів дослідження, особливо на 24-у добу експерименту (до лікування) ніж окремо відносно контролю [26, 27, 28, 29].

Одночасне застосування двох препаратів зумовлює більш виразний цитокінокоригуючий ефект, ніж за умов використання лише корвітину, який проявляється підвищенням концентрації протизапального цитокіну в умовах зниження протизапальних цитокінів і може вказувати на доцільність проведення подальших як експериментальних так і можливих клінічних досліджень при ЕАА і ІС.

На основі отриманих результатів дослідження було сформульовано другий загальний висновок.

Наступні наші дослідження були присвячені вивченню стану системи L-аргінін-оксид азоту в легенях морських свинок у різні періоди формування експериментального алергічного альвеоліту і іммобілізаційного стресу та їх корекція тіотриазоліном і корвітином, оскільки зазначені маркери NO системи є не досліджені до кінця [25].

Нині відомо, що оксид азоту, продукуючись в ендотеліоцитах, нейронах та астроцитах префронтальної кори, смугастого тіла, гіпокампа, зубчастої звивини, міжніжкового ядра внаслідок активації їх ГАМК- і NMDA-рецепторів за участі cNOS, про зростання експресії генів якої під час стресу і тривоги вже доведено, забезпечує регуляцію нейротрансмісії, збудливості нейронів, проведення больової імпульсації спіно-таламічним шляхом, обробки сенсорної інформації та формування орієнтувальних рефлексів (нюхова цибулина, нижні горбки таламуса) сенситизації, репродукції, апетиту, пам'яті та навчання,

утворення ГАМК, глутамату, гістаміну та серотоніну, тоді як в патологічних умовах утворення NO, що відбувається впродовж щонайменше 5 днів, здійснюючись за участі нейтрофілів та макрофагів як відповідь імунно-запального характеру, відіграє роль у модулюванні Т-хелперно-супресорного співвідношення, міграції лімфоцитів та цитолітичної здатності НК-клітин та, відповідно, встановленні ролі стабільних метаболітів оксиду азоту як маркерів динаміки захворювань алергічного та запального характеру і ефективності застосовуваних ліків [25, 91, 198]. Варто зауважити, що надмірна активність NOS, особливо в умовах оксидантного стресу, є небезпечною у зв'язку з утворенням пероксинітриту з подальшим S-нітрозилюванням і нітротирозуванням білків-рецепторів, йонних каналів та ферментів, утворення нітрогуаніну і розривів ланцюгів ДНК, а під час запалення посилює адгезію лейкоцитів і проникність судинної стінки [198].

Тому визначення характерних ознак відхилень параметрів системи оксиду азоту при ЕАА і ІС без та після використання тіотриазоліну і корвітину має важливе значення для глибшого розуміння окремих механізмів розвитку даних моделей хвороб та визначення ефективності патогенетичної терапії відповідно.

Як помітно з одержаних результатів дослідження, що в динаміці (1-а, 14-а, 24-а доби) формування експериментального алергічного альвеоліту відбувалося поступове зростання вмісту стабільних метаболітів NO в легенях відносно контролю, що вказувало на те, що ці показники NO були найбільше виражені у найпізніший термін нашого спостереження (24-а доба), хоча були високими в усі інші періоди розвитку цієї експериментальної моделі хвороби [25].

Продемонстровано в легенях закономірне наростання при порівнянні з першою, контрольною групою тварин, сумарної активності NOS на 1-у, 14-у і 24-у доби ЕАА [25].

Дослідженням L-аргініну встановлено на 1-у добу ЕАА в легенях, що цей маркер був рівноцінним щодо інтактних тварин, не підлягаючи істотним зрушенням. Відтак на 14-у та 24-у доби постановки зазначеної моделі захворювання проти інтактною групи тварин спостерігалось в легенях спадання L-аргініну [25].

Отже, здійснене нами при ЕАА визначення нітрит- і нітрат-йонів, L-аргініну і сумарної активності NOS показало відносно першої групи тварин ступеневе підвищення стабільних метаболітів NO і активності NOS разом з відчутним зменшенням L-аргініну в легенях з переважним домінуванням на 14-у і 24-у доби відтворення даної хвороби експериментально, що залежало від інтенсивності в легенях прогресії алергічних реакції і фази їх перебігу [25]. Це має важливе значення щодо участі порушень показників системи NO в патогенезі розвитку цієї імунокомплексної патології.

Також були вивчені особливості змін маркерів системи NO у легенях в динаміці розвитку іммобілізаційного стресу [25].

Встановлено, що у першій стадії тривоги (1-а доба) стресу відбувалося найсуттєвіше підвищення рівня стабільних метаболітів NO в легенях проти контролю [25].

У другій і третій стадії (резистентності та виснаження) було відзначено також їх зростання на 14-у і 24-у доби експерименту відносно інтактною групи тварин, проте дещо в меншій ступені вираженості [25].

Визначення сумарної активності NOS показало її зростання в легенях на усіх стадіях прояву стресу (тривоги, резистентності і виснаження) при порівнянні з першою групою тварин [25].

Дослідження L-аргініну в легенях у динаміці (1-а, 14-а, 24-а доби) формування ІС показало зниження його рівня на усіх фазах прогресування проти контролю [25].

Одержані нами результати – зниження вмісту L-аргініну можна пояснити активною, підвищеною витратою його на синтез NO при ІС [25].

Отже, підсумовуючи отримані нами результати досліджень можна констатувати, що ІС на усіх стадіях свого розвитку суттєво вплинув на показники системи оксиду азоту, а саме було виявлено помітне підвищення вмісту стабільних метаболітів NO і сумарної активності NO синтази в умовах зниження рівня L-аргініну з домінування їх змін у першій стадії (1-а доба) тривоги стресу відносно першої групи тварин [25].

ЕАА поєднаний з ІС (1-а, 14-а, 24-а доби) зумовлював суттєве поступове зростання рівня стабільних метаболітів NO в легенях проти контрольної групи тварин [25].

Одержані нами дані можуть свідчити про те, що за визначенням цього показника можна характеризувати ступінь активності даної моделі хвороб і стресу.

Вивчення сумарної активності NOS було встановлено в процесі (1-а, 14-а, 24-а доби) розвитку ЕАА разом з ІС послідовне її підвищення активності в легенях при порівнянні з першою групою тварин [25].

Дослідження концентрації L-аргініну в легенях при поєднанні ЕАА і ІС на 1-у, 14-у і 24-у доби експерименту показало поетапне його зниження відповідно інтактної групи тварин [25].

Як видно з отриманих результатів дослідження зниження рівня L-аргініну можна пояснити значними витратами його на інтенсивний синтез оксиду азоту, який поступово зростав в залежності від тривалості експерименту, особливо в умовах ЕАА поєднаного з ІС [25, 31].

Таким чином, проведений нами комплекс біохімічних досліджень стосовно показників оксиду азоту при поєднанні ЕАА і стресу показав порушення системи NO, які супроводжувалися підвищенням рівня стабільних метаболітів NO і активності NOS на тлі зниження концентрації L-аргініну в легенях, що найбільше домінували на 14-у і 24-у доби експерименту проти контрольних величин [25].

Комбіноване застосування тіотриазоліну разом з корвітином призводило до більш суттєвого зниження інтенсивності нагромадження стабільних метаболітів NO та активності NOS в легенях і підвищення вмісту L-аргініну ніж за умов окремого використання корвітину при ЕАА і ІС на 24-у добу експерименту відносно групи тварин, які не зазнавали впливу даних лікарських середників, що вказувало на їх коригувальну дію на порушені маркери системи оксиду азоту [25].

Отже, отримані нами результати досліджень дозволяють стверджувати, що поєднаний ЕАА з ІС зумовлює більш помітні порушення маркерів системи оксиду азоту ніж окремо до лікування відносно контролю [25]. Застосування разом тіотриазоліну і корвітину викликає більше коригувальну дію ніж окремо корвітин на показники NO і може свідчити про їх позитивний вплив на змінені метаболічні процеси щодо оксиду азоту в легенях, які виникли в результаті дії імунокомплексної патології та іммобілізаційного стресу [25].

На основі отриманих нами результатів дослідження було сформульовано третій загальний висновок.

Наступним нашим завданням дисертаційної роботи було визначити особливості порушень прооксидантної і антиоксидантної систем у легенях в динаміці розвитку експериментального алергічного альвеоліту та іммобілізаційного стресу та корекція їх корвітином і тіотриазоліном [30]. Питання, які стосуються вивчення змін процесів ліпопероксидації та стану антиоксидантного захисту в самців морських свинок у різні періоди розвитку ЕАА та ІС, дозволили встановити участь одного з молекулярних механізмів пошкодження клітин.

При захворюваннях імуно-запального генезу наукою встановлено факт неодмінної активації лейкоцитів як ланки знешкодження причинних агентів, що в більшості випадків супроводжується оксидантним стресом внаслідок активації НАДН-оксидазної системи фагоцитів, що генерує пероксид водню, гідроксильний радикал, супероксид-радикал і синглетний кисень, та

мієлопероксидазної системи нейтрофілів, продукуючої гіпохлорит-аніон [1, 60, 184].

Невід'ємною умовою розвитку оксидантного стресу в даному випадку є відносна функціональна неспроможність антиоксидантних систем, коли утворення вільних радикалів за інтенсивністю переважає над швидкістю їх знешкодження [184]. Основними продуктами реакцій вільнорадикального окиснення неестерифікованих жирних кислот і фосфоліпідів, які спричиняють пошкодження плазматичних мембран та мембран органел, порушення їх плинності та проникності, є основи Шиффа, дієнові кон'югати і малоновий діальдегід, тоді як окиснення білків викликає структурно-функціональні порушення рецепторів, білків антиоксидантних ферментів, пентозофосфатного циклу, а нуклеїнових кислот — окисні модифікації ДНК [1, 4, 30, 60, 184]. Звідси випливає, що оксидантний стрес тої чи іншої вираженості супроводжує розвиток більшості хвороб запального та алергічного характеру [10, 11, 18, 19]. Беручи до уваги розвиток характерних змін внаслідок моделювання стресу з боку нейроендокринної регуляції функцій клітин лейкоцитарного ряду, зазначених вище, варто зацікавитись значенням даного адаптаційного синдрому у формуванні оксидативного стресу [10,11, 18, 19, 32, 33, 246].

З цією метою були проведені біохімічні дослідження та проаналізовані результати порушення маркерів антиоксидантної (СОД, КТ, ЦП) та прооксидантної (ДК і МДА) систем у легнях морських свинок у динаміці розвитку вищевказаних патологій без та після використання препаратів тіотриазоліну і корвітину [30]. Відомо, що антиоксидантний вплив тіотриазоліну і корвітину характеризується виразними мембраностабілізуючими властивостями, що сприяє нормалізації прооксидантно-антиоксидантної системи організму, шляхом підсилення синтезу активності ферментів антирадикального захисту і, як наслідок, — підвищенням стійкості клітин до екстремальних впливів продукції ПОЛ [2, 3, 15, 16, 17, 31, 34, 58, 60, 68, 79, 115, 136, 144, 185, 186, 190, 273, 311, 314].

Під час моделювання експериментального алергічного альвеоліту властивості прооксидантних систем було вивчено завдяки встановленню вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів – МДА і ДК, а притаманні зміни функціонування антиоксидантних систем – за рівнем ЦП, активністю КТ і СОД в легенях [30].

Результати біохімічних досліджень показали, що в залежності від етапу експерименту – ЕАА (1-а, 14-а, 24-а доби) відбувалося підвищення ДК відносно контрольної групи тварин [30].

Аналогічних змін при ЕАА зазнавав інший продукт ліпопероксидації, а саме рівень МДА в легенях, який зростав проти інтактної групи тварин [30].

Отже, як показують наші дослідження, що ЕАА супроводжується поступовим підвищенням концентрації токсичних метаболітів вільнорадикального окиснення, які були найбільше виражені в пізні періоди (14-а, 24-а доби) цієї імунотоксичної патології [30].

Надмірна активність процесів перекисного окиснення ліпідів спричинило зміну активності ферментів як ферментативної так і неферментативної ланок антиоксидантного захисту.

Було розпочато дослідження ферментативної ланки АОС з визначення активності фермента, який насамперед зменшує надмірну кількість продуктів ліпопероксидації (ДК, МДА) і виконує захисну функцію першої лінії [30]. Йдеться мова про активність СОД в легенях при ЕАА [30].

Було встановлено, що на 1-у добу ЕАА відбувалося незначне зростання активності СОД в легенях відносно контрольної групи тварин, що вказувало на його компенсаторне підвищення даного ензиму, яке спрямоване на виведення надмірної кількості токсичних продуктів ПОЛ [30].

Супроти першої дослідної групи, помічено на 14-у і 24-у доби у разі відтворення в експерименті зазначеного імунотоксичного захворювання спадання активності СОД [30].

Аналогічні відхилення в легенях, як і щодо СОД, було відзначено під час моделювання ЕАА з приводу активності й каталази [30].

Виявлено, що на початку розвитку ЕАА (1-а доба) відбувалося помірне підвищення активності КТ в легенях проти контролю [30].

В порівнянні з інтактною групою, у легенях встановлено на 14-у добу в ході постановки ЕАА зі слідуючим характерним посиленням у 24-у добу, вагоме спадання активності КТ, що засвідчує факт функціонального послаблення ферментативного компоненту антиоксидантних протективних систем [30].

Крім двох показників ферментативної АОС, вивчали також рівень ЦП в легенях при ЕАА, який належить до маркерів неферментативної ланок АОС [30]. На 14-у і 24-у доби перебігу відтвореного нами ЕАА, порівняно з інтактними тваринами, ЦП в легенях був достовірно істотно пониженим, тоді як на 1-у добу не спостерігалось у легенях статистично вірогідних відхилень ЦП — значення вказаного маркера було наближеним щодо такого у інтактної групи [30].

Таким чином, проведені нами комплексні біохімічні дослідження показали зростання продуктів ПОЛ на тлі зниження показників АОС в легенях, особливо на 14-у і 24-у доби ЕАА, що вказувало на розвиток оксидантного стресу [30].

В залежності від стадії розвитку стресу (тривоги, резистентності і виснаження), що відповідали 1-й, 14-й і 24-й добі експерименту було встановлено підвищення вмісту ДК і МДА в легенях проти контрольної групи тварин [30].

Активність СОД в легенях на 1-у добу ІС незначно зростала, а далі на 14-у і 24-у доби була зниженою проти контрольної групи тварин [30].

Вивчення активності КТ в легенях на стадії тривоги (1-а доба) стресу показало помірне зростання її на 9,4%, а в стадії резистентності і виснаження

(14-а і 24-а доби) спостерігалось зниження даного ферменту в порівнянні з інтактною групою тварин [30].

Як показують отримані нами результати досліджень, ферментативна ланка антиоксидантного захисту в умовах розвитку стресу в стадії тривоги зростала, а на стадіях резистентності і виснаження відбувалося суттєве пригнічення її активності в легенях, що вказувало на формування оксидантного стресу [30].

З метою більш повноцінної характеристики стану антиоксидантної системи було також досліджено рівень ЦП в легенях при ІС, як показника, що відноситься до неферментативної ланки АОЗ [30].

В гомогенаті легень було констатовано на 1-у добу від моделювання ІС факт зростання ЦП, а разом з тим, на 14-у і 24-у доби зафіксовано протилежного спрямування зрушення — зменшення відносно групи контролю числового значення вищезгаданого досліджуваного параметра [30].

Таким чином, в ході виконання біохімічних досліджень в усі періоди перебігу ІС було зафіксовано в легенях накопичення метаболітів вільнорадикального окиснення ліпідів консолідовано з ослабленням ферментативного і неферментативного складників антиоксидантних протективних механізмів, що превалювало на 14-у і 24-у доби, засвідчуючи розпал оксидативного стресу, який очевидно посилював перебіг самого ІС [30].

В умовах розвитку ЕАА, що поєднаний з ІС (1-а, 14-а і 24-а доби) було виявлено поетапне підвищення вмісту ДК в легенях проти контролю [30].

Вміст МДА в легенях в динаміці формування ЕАА і ІС (1-а, 14-а і 24-а доби) зростав в порівнянні з першою групою тварин, що вказувало на надмірне утворення метаболітів ПОЛ на усіх етапах експерименту з перевагою на 24-у добу [30].

Отже, підсумовуючи отримані нами результати досліджень дають можливість констатувати, що поєднаний ЕАА з ІС зумовлює суттєві порушення щодо рівня продуктів ПОЛ, як первинних так і вторинних на усіх етапах

спостереження з особливим домінуванням цих показників на 24-у добу експерименту [30].

Надзвичайно велика активність процесів ліпопероксидації викликали помітні зрушення, як показників ферментативної (СОД, КТ) так і неферментативної ланок (ЦП) антиоксидантного захисту [30].

Так активність СОД і КТ в легенях з перших діб ЕАА і ІС і надалі (1-а, 14-а, 24-а доба) була достовірно зниженою, що поступово падало відповідно до етапів дослідження проти контрольної групи тварин [30].

На усіх етапах формування ЕАА і ІС (1-а, 14-а, 24-а доба) спостерігалось також помітне зниження вмісту ЦП в легенях проти контролю [30].

Таким чином, здійснений обсяг біохімічних досліджень змін провідних критеріїв перебігу вільнорадикального окиснення ліпідів і компонентів антиоксидантних протективних систем (МДА, ДК, КТ, СОД, ЦП) надає підставу зауважити наявність вираженого оксидантного стресу, що проявлявся зростанням продуктів ПОЛ на тлі виснаження АОС на усіх етапах поєданого ЕАА з ІС, а особливо на 24-у добу експерименту відносно контролю, що посилював і ускладнював перебіг алергічного альвеоліту при попередньому відтворенні стресу [30].

На основі отриманих нами результатів дослідження було сформульовано четвертий загальний висновок.

Застосування тіотриазоліну з корвітином спричиняло в легенях більш виразно ніж за умов використання лише корвітину зниження ДК, МДА та підвищення СОД і КТ і ЦП при ЕАА і ІС (на 24-у добу) проти даної групи тварин АА і ІС без корекції досліджуваними медичними препаратами [30, 31].

В цьому контексті слід підкреслити, що тіотриазолін – оригінальний препарат різнонаправленого спектру дії, широковідомий у різних сферах медицини, а клініко-експериментальне дослідження при різних видах патології показало, що він має вплив на білковий, вуглеводневий, ліпідний обміни, регулює енергетичний обмін, зменшує інтенсивність окиснення в циклі Кребса,

сприяє збереженню концентрації АТФ у клітинах, проявляє виражену антиоксидантну дію, нормалізує показники імунітету, стимулює регенерацію [242, 273, 314].

Тіотриазолін відносять до кардіо- та гепатопротекторів, виявляє антиоксидантну, протизапальну, антиішемічну, мембраностабілізуючу та імуномодельюючу дію [2, 15, 16, 31, 79, 186].

Кверцетин широко застосовується в практичній охороні здоров'я як унікальний препарат, що має антиоксидантні, мембраностабілізуючі, протизапальні, імуномодулюючі, протиішемічні, анаболітичні, протівірусні, антигіпоксичні властивості [58, 68, 115, 136, 190, 273, 311, 314].

На основі отриманих нами результатів дослідження було сформульовано п'ятий загальний висновок.

Отже, отримані нами результати досліджень вказують на більшу антиоксидантну дію тіотриазоліну разом з корвітином ніж окремо лише корвітину на порушені показники про- і антиоксидантних систем в ході перебігу змодельованого нами в експерименті ЕАА, що супроводжується ІС, та доводять доцільність їх застосування і перспективність як призначення цих ліків в експерименті, так і їх наступне випробування в клініці внутрішніх хвороб (пульмонології, алергології, неврології, тощо) [30, 31].

Реалізовані нами різні комплексні біохімічні, імунологічні і імуноферментні дослідження при моделюванні ЕАА і ІС як ізольовано, так і консолідовано, дають можливість розкрити в крові і легенях без та після проведення ін'єкцій тіотриазоліну і корвітину у морських свинок характерні властивості формування імуного дисбалансу, якісних зрушень з боку компонентів системи оксиду азоту, цитокіногенезу, вільнорадикального окиснення ліпідів і антиоксидантних систем протекції [24, 25, 26, 27, 28, 29, 30]. Було з'ясовано, що ЕАА з ІС у крові і легенях зумовлює більш різкий, ніж за умов ізольованого їх перебігу, розвиток оксидантного стресу, нагромадження токсичних стабільних метаболітів оксиду азоту, зростання ЦІК, В-лімфоцитів,

сумарної активності NOS, концентрації прозапальних ФНП- α і ІЛ-6, зниження ІЛ-10, L-аргініну, Т-лімфоцитів, ферментів АОЗ, найбільш виражені проти контролю на 24-у добу [24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31].

Застосування тіотриазоліну разом з корвітином спричиняло більш виражений антиоксидантний, цитокінокоригуючий, імуномодулюючий ефект ніж один корвітин за умов маніфестації алергічного альвеоліту асоційованого з іммобілізаційним стресом [24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31].

Отриманий фактичний експериментальний матеріал дисертаційної роботи дає можливість деталізувати відомості щодо механізмів запуску та перебігу досліджуваної імунокомплексної моделі хвороби і стресу, удосконалювати їх діагностику та терапію.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі продемонстровано теоретичні підсумки та нові методи вирішення наукового завдання, яке полягає у з'ясуванні ролі відхилень окремих параметрів клітинного і гуморального імунітету, цитокінового профілю, системи оксиду азоту, процесів ліпероксидації та функціональної активності антиоксидантних систем в крові і легенях у патогенезі експериментального алергічного альвеоліту, що розвивається в умовах впливу іммобілізаційного стресу [24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31]. На підставі проведених експериментів підтверджено потенційну спроможність та перспективу коригування виявлених зрушень параметрів за допомогою поєданого застосування корвітину і тіотриазоліну [24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31].

1. Встановлений під час перебігу відтворених в експерименті стресу і ЕАА імунний дисбаланс проти значень маркерів інтактних тварин, з властивим для нього виснаженням клітинного та безперервною індукцією гуморального імунітету в крові, що виражено збільшенням В-лімфоцитів — на 44,3% ($P < 0,05$), циркулюючих імунних комплексів на 50,7% ($P < 0,05$), зменшенням Т-лімфоцитів на 39,6% ($P < 0,05$), з домінуванням вказаних відхилень на 24-у добу експерименту, відіграє ключову роль в основі патогенезу експериментального алергічного альвеоліту в умовах дії іммобілізаційного стресу [24].

2. В ході моделювання експериментального алергічного альвеоліту з іммобілізаційним стресом помічено дисбаланс співвідношення прозапальних цитокінів, а саме їх підвищення в крові на усіх етапах експерименту (1-а, 14-а, 24-а доби) з перевагою на 24-у добу [26, 28, 29]. Так, в порівнянні з групою контролю констатовано наявність характерних рис вичерпання ресурсу протизапальних цитокінів, що представлено як зменшення інтерлейкіну-10 на 43,3% ($P < 0,05$), на противагу збільшенню інтерлейкіну-6 — на 58,6% ($P < 0,05$), фактора некрозу пухлин-альфа на 78,9% ($P < 0,05$) [26, 27, 28, 29]. Згідно з вищезазначеним, підтверджується важливість цитокінопосередкованого

ушкодження тканин, посилення патоімунного процесу за експериментального поєднання алергічного альвеоліту з іммобілізаційним стресом [26, 27, 28, 29].

3. Було зафіксовано відносно контролю виснаження в легенях запасів L-аргініну на 55,0% ($P < 0,05$), накопичення нітрит- і нітрат-іонів — продуктів обміну метаболітів оксиду азоту у вигляді зростання їх на 140,0% ($P < 0,05$), сумарної активності синтаз оксиду азоту — на 122,2% ($P < 0,05$) під час маніфестації експериментального алергічного альвеоліту в сполученні з іммобілізаційним стресом, що було відзначено на всіх фазах їх розвитку, превалюючи на 24- добу експерименту [25].

4. На протязі всього часу формування експериментального алергічного альвеоліту в умовах іммобілізаційного стресу з'ясовано визначальну роль оксидантного стресу, обумовленого інтенсифікацією утворення вільних радикалів і пероксидів, продуктів ліпероксидації, що показано збільшенням нагромаджених дієнових кон'югатів і малонового діальдегіду на 90,4% ($P < 0,05$) і 88,6% ($P < 0,05$) відповідно у гомогенаті легень, і послабленням захисних властивостей антиоксидантних протекторних систем, що проти показників контролю засвідчено зниженням активності каталази — на 55,1% ($P < 0,05$), супероксиддисмутази — на 44,1% ($P < 0,05$) церулоплазміну — на 44,3% ($P < 0,05$), з домінуванням зазначених зрушень на 24-у добу експерименту [30].

5. Поєднане застосування тіотриазоліну разом з корвітином зумовлює виразніший імуномодулюючий, антиоксидантний і цитокінокоригуючий вплив ніж за умов окремого використання корвітину на порушені показники метаболічних і імунних процесів (підвищується вміст Т-лімфоцитів, інтерлейкіну-10, L-аргініну, активність супероксиддисмутази, каталази і рівень церулоплазміну та знижується концентрація стабільних метаболітів і активність сумарної синтази оксиду азоту, В-лімфоцитів, циркулюючих імунних комплексів, фактора некрозу пухлин-альфа, інтерлейкіну-6, дієнових кон'югатів, малонового діальдегіду) при моделюванні алергічного альвеоліту з іммобілізаційним стресом [24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31].

Рекомендації щодо наукового і практичного застосування отриманих результатів

Результати проведених імунологічних, імуноферментних та біохімічних досліджень дозволяють:

1. Впровадити на кафедрах патологічної фізіології та клінічних профільних кафедр (пульмонології, алергології, неврології, психіатрії) медичних вишів результати дослідження, які дають змогу поглибити та розширити знання відносно патогенезу формування експериментального алергічного альвеоліту асоційованого з іммобілізаційним стресом.
2. Рекомендувати для раннього виявлення ускладнень та прогнозу розвитку екзогенного алергічного альвеоліту та стресу визначати імунологічні і біохімічні показники в крові - Т і В-лімфоцити, ЦК, ІЛ-6, ІЛ-10, ФНП- α , ДК, МДА, СОД, КТ, стабільні метаболіти NO і сумарну активність NOS, L-аргініну.
3. Пропонувати патогенетично обґрунтовану терапію з імуномодулюючою, антиоксидантною дією порушених імунних і метаболічних процесів за допомогою поєданого використання тіотриазоліну і корвітину хворим на АА асоційованого з стресом з проявами дисбалансу цитокінів, порушених показників системи оксиду азоту, імунної системи, оксидантного стресу.
4. Виражена імунокоригуюча і антиоксидантна, цитокінокоригуюча дія тіотриазоліну і корвітину, що встановлена результатами наших досліджень дає можливість подальшого вивчення і очевидного поєданого використання їх в клінічній практиці лікаря як лікарських засобів для комплексної терапії екзогенного алергічного альвеоліту асоційованого з стресом.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Атаман О.В. Патолофізіологія: в 2ох частинах. Т 1. Загальна патологія. Вінниця: *Нова книга*. 2012. С. 592.
2. Байда М.Л. Особливості процесів ліпопероксидації та стану антиоксидантного захисту у легенях морських свинок в пізні періоди формування експериментального алергічного альвеоліту та корекція цих порушень тіотриазоліном. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник української медичної стоматологічної академії*. 2018. №1 (18). С. 153-156.
3. Беленічев, І. Ф., Алієва, О. Г., Гуніна, Л. М. Оцінка ефективності медикаментозної нейропротекції після експериментальної пренатальної гіпоксії. *Фізіологічний Журнал*. 2023. №1 (69). С. 43–53.
4. Гавриленко, Т. І., Рижкова, Н. О., Пархоменко, О. М.. Сучасні погляди на роль нейтрофілів в імунній відповіді. *Фізіологічний Журнал*. 2021. №3 (67). С. 75–86.
5. 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.
6. Горизонтов П. Д., Белоусова О. И., Федотов М. И. Стресс и система крови. М. 1983. С. 338.
7. Зачепа О. А. Динаміка показників цитолізу за умов поєднаної травми живота і грудної клітки в період ранніх проявів травматичної хвороби та їх корекція тіотриазоліном. *Вісник Морської Медицини*. 2019. №4 (85). С. 58–65. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.3606836>
8. Керівництво до практичних занять з біохімії. Алейникова Т. Л., Рубцова Г. В, Павлова Н. А. М. 2000. С.128.

9. Ковалевська Л.А., Горбенко Т.Н., Телятніков О.В. Особливості гострого екзогенного алергічного альвеоліту; труднощі в діагностиці. *Актуальні Проблеми Транспортної Медицини*. 2019. №4 (58). С. 112–122.
<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.3611199>
10. 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 (165). С. 5-9
11. 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 (69). С. 191–193.
12. Колб В. Г. Определение активности церулоплазмينا в крови. *Справочник по клинической химии*. 1982. С. 290-291.
13. Коробейникова Э. Н. Модификация определения продуктов ПОЛ в реакции с тиобарбитуровой кислотой. *Лаб. дело*. 1989. № 7. С. 8–10.
14. Кошля В.І., Кульбачук О.С., Піскун А.В. Вплив тіотриазоліну на стан клітинного і гуморального імунітету у хворих на хронічні обструктивні захворювання легень. 2019. *Медичний Форум*. №16. С. 49–51.
15. Кривенко В.І., Колесник М.Ю., Беленічев І.Ф., Кучеренко Л.І., Мазур І.А. Тіотриазолін у підвищенні ефективності і безпеки комплексного лікування Covid-19. *Новини Медицини Та Фармації*. 2022. №2 (779). С. 6–10.
16. Кривенко В.І., Колесник М.Ю., Галицька, А.К., Кучеренко Л.І., Беленічев І.Ф., Павлов, С.В.. Постковідний синдром: механізми ураження органів-мішеней. Особливості метаболітотропної терапії. *Новини Медицини Та Фармації*. 2022. №11 (781). С. 11–18.
17. Кривенко В.І., Світлицька О.А. 2020. Тіотриазолін у комплексному лікуванні хворих з поєднаним перебігом обструктивного апное сну та гастроєзофагеальної рефлюксної хвороби. *Sciences of Europe*. 2020. №52. С. 31–38.

18. Лис О.Б., Регеда М.С., Грушка О.І. Особливості порушень процесів пероксидного окислення ліпідів та антиоксидантного захисту в крові у динаміці розвитку іммобілізаційного стресу при адреналіновому ушкодженні міокарда. *Вісник наукових досліджень*. 2018. №3. С. 134-137.
19. 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 (92). С. 86-91. DOI: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.5593358>.
20. Олекшій П.В. Роль порушень імунологічної реактивності за умов формування експериментального пародонтиту та іммобілізаційного стресу. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2021. №3 (65). С. 106-110. DOI: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.5590532>.
21. 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.
22. Охотнікова О. М., Усова О. І. (2017). Екзогенний алергічний альвеоліт: етіопатогенез, діагностика, клініка, лікування. *Український Медичний Часопис*. 2017. №4 (120). С. 70–76.
http://nbuv.gov.ua/UJRN/UMCh_2017_4_22
23. Прохорова М. И. Методы биохимических исследований. Л. 1982. 272 с.
24. 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 (13). С. 41-48.
25. 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 (74).С. 113-124.

26. Регеда М.С., Галій-Луцька В.В. Значення коригуючого впливу корвітину та тіотриазоліну на рівні деяких прозапальних цитокінів у крові при експериментальному поєднанні алергічного альвеоліту та іммобілізаційного стресу. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2023. №3 (73). С. 132-145.
27. Регеда М.С., Галій-Луцька В.В. Особливості змін ІЛ-10 крові в умовах експериментального поєднання алергічного альвеоліту та іммобілізаційного стресу і його фармакологічної корекції. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2023. №1-2 (71-72). С. 164-171.
28. 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.
29. Регеда М.С., Галій-Луцька В.В. Роль інтерлейкіну-6 в крові в патогенезі розвитку коморбідної патології – іммобілізаційного стресу та експериментального алергічного альвеоліту. *Матеріали Пленуму Українського наукового товариства патофізіологів «Особливості науково-педагогічного процесу в період пандемії COVID-19» 15-17 вересня 2022*. Тернопіль. 2022. С. 71-72.
30. Регеда М.С., Галій-Луцька В.В. Визначення ефективності корвітину та тіотриазоліну щодо корекції відхилень параметрів прооксидантно-антиоксидантної системи при експериментальному алергічному альвеоліті в умовах іммобілізаційного стресу. *Вісник морської медицини*. 2023. №4 (101). С. 52-59.
31. Регеда М.С., Регеда-Фурдичко М.М., Гайдучок І.Г. Екзогенний алергічний альвеоліт. Монографія. Видання третє, доп. та пер. *Львів*. 2022. 238 с.
32. Регеда М.С., Олекшій П.В. Роль процесів ліпопероксидації та антиоксидантного захисту в тканинах наднирників в патогенезі розвитку іммобілізаційного стресу. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2023. №1-2 (71-72). С. 142-148.

33. 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 (66). С. 121-127. DOI: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.5590437>
34. Резніченко Г. І., Резніченко Н. Ю., Потеня В. Ю. Эффективность Тиотриазолина в лечении воспалительных заболеваний придатков матки. *Dermatovenerology. Cosmetology. Sexopathology*. 2019. № 3–4. С. 65–69. <https://doi.org/10.37321/dermatology.2019.3-4-11>
35. 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.
36. Ткачова Т.М, Охотнікова О.М, Попова Н.О. Складний шлях діагностики екзогенного алергічного альвеоліту у дітей. *Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія*. 2019; №3 (116). С. 19–26.
37. Чернушенко Е. Ф., Когосова Л. С. Иммунология и иммунопатология заболеваний легких. *К. Здоров'я*. 1981. 208 с.
38. Agustiyanto C., Permatasari A. Farmer's Lung Disease. *Jurnal Respirasi*. 2021 №7 (3). P. 152–157. <https://doi.org/10.20473/jr.v7-I.3.2021.152-157>
39. Agyarong B., Obuobi-Donkor G., Burbach L. Stress, Burnout, Anxiety and Depression among Teachers: A Scoping Review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2022. №19 (17). P. 1–42. <https://doi.org/10.3390/ijerph191710706>
40. Ahad A., Chahar P., Haque E. Factors affecting the prevalence of stress, anxiety, and depression in undergraduate Indian dental students. *Journal of Education and Health Promotion*. 2021. № 10. P. 1–8. https://doi.org/10.4103/jehp.jehp_1475_20
41. Ahmed A., Schmidt C., Brunner T. Extra-Adrenal Glucocorticoid Synthesis in the Intestinal Mucosa: Between Immune Homeostasis and Immune Escape.

- Frontiers in Immunology*. 2019. №10. P. 1–19.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01438>
42. Al-kuraishy H.M., Al-Gareeb A.I., Mostafa-Hedeab G. Effects of β -Blockers on the Sympathetic and Cytokines Storms in Covid-19. *Frontiers in Immunology*. 2021. №12. P. 1–12. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.749291>
43. Al-kuraishy H. M., Al-Gareeb A. I., Qusti S. Arginine vasopressin and pathophysiology of COVID-19: An innovative perspective. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2021. № 143. P. 1–7.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112193>
44. Al Bahhawi T., Albasheer O. B., Makeen A. M. Depression, anxiety, and stress and their association with khat use: a cross-sectional study among Jazan University students, Saudi Arabia. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*. 2018. №14. P. 2755–2761. <https://doi.org/10.2147/NDT.S182744>
45. Alberti M. L., Rincon-Alvarez E., Buendia-Roldan I. Hypersensitivity Pneumonitis: Diagnostic and Therapeutic Challenges. *Frontiers in Medicine*. 2021. №8, P. 1–10. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.718299>
46. Alhussien M. N., Dang A. K. Interaction between stress hormones and phagocytic cells and its effect on the health status of dairy cows: A review. *Veterinary World*. 2020. №13 (9). P. 1837–1848.
<https://doi.org/10.14202/vetworld.2020.1837-1848>
47. Alizadeh S. R., Ebrahimzadeh M. A. Quercetin derivatives: Drug design, development, and biological activities, a review. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2022. № 229. P. 114068.
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2021.114068>
48. Alrashed F. A., Alsubiheem A. M., Alshammari H. Stress, Anxiety, and Depression in Pre-Clinical Medical Students: Prevalence and Association with Sleep Disorders. *Sustainability*. 2022. №14. P. 1–18.
<https://doi.org/10.3390/su141811320>
49. Alsaleem M. A., Alsaleem S. A., Shehri S. Prevalence and correlates of university students' perceived stress in southwestern Saudi Arabia. *Medicine*. 2021. №100 (38), P. 1–5. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000027295>
50. Aluh D. O., Abba A., Afosi A. B. Prevalence and correlates of depression, anxiety and stress among undergraduate pharmacy students in Nigeria.

Pharmacy Education. 2020. № 20 (1). P. 236-248.
<https://doi.org/10.46542/pe.2020.201.236248>

51. Amirinejad A., Darand M., Davies I. G. Higher dietary glycemic load is inversely associated with stress prevalence among Iranian adults. *BMC Neuroscience*. 2022. №23 (28). P. 1–9. <https://doi.org/10.1186/s12868-022-00713-z>
52. Antoni M. H., Dhabhar F. S. The impact of psychosocial stress and stress management on immune responses in patients with cancer. *Cancer*. 2019. №125 (9). P. 1417–1431. <https://doi.org/10.1002/cncr.31943>
53. Anwar J., Kong W. T., Balakrishnan B. Updates in Hypersensitivity Pneumonitis: A Narrative Review. *Current Pulmonology Reports*. 2022. №11 (4). P. 106–115. <https://doi.org/10.1007/s13665-022-00294-6>
54. Anyetei-Anum C. S., Roggero V. R., Allison L. A. Thyroid hormone receptor localization in target tissues. *Journal of Endocrinology*. 2018. №237 (1). P. 19–34. <https://doi.org/10.1530/JOE-17-0708>
55. Armentia A., Fernández S., San Miguel Rodríguez A. Occupational hypersensitivity pneumonitis caused by fossil-containing rocks. *Clinica Chimica Acta*. 2022. № 524. P. 139–145.
<https://doi.org/10.1016/j.cca.2021.11.008>
56. Asgharian P., Tazekand A. P., Hosseini K. Potential mechanisms of quercetin in cancer prevention: focus on cellular and molecular targets. *Cancer Cell International*. 2022. №22 (257). P. 1–20. <https://doi.org/10.1186/s12935-022-02677-w>
57. Ayano G., Solomon M., Tsegay L. A Systematic Review and Meta-Analysis of the Prevalence of Post-Traumatic Stress Disorder among Homeless People. *Psychiatric Quarterly*, 2020. №91 (4). P. 949–963.
<https://doi.org/10.1007/s11126-020-09746-1>
58. Azeem M., Hanif M., Mahmood K. An insight into anticancer, antioxidant, antimicrobial, antidiabetic and anti-inflammatory effects of quercetin: a review. *Polymer Bulletin*. 2023. №80 (1). P. 241–262. <https://doi.org/10.1007/s00289-022-04091-8>

59. Bagath M., Krishnan G., Devaraj C. The impact of heat stress on the immune system in dairy cattle: A review. *Research in Veterinary Science*. 2019. №126. P. 94–102. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2019.08.011>
60. Balendra V, Singh S.K. Therapeutic potential of astaxanthin and superoxide dismutase in Alzheimer's disease. *Open Biol*. 2021. № 11 (6). P. 1–11. <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rsob.210013>
61. Barbier L., Ferhat M., Salamé E. Interleukin-1 Family Cytokines: Keystones in Liver Inflammatory Diseases. *Frontiers in Immunology*. 2019. №10. P. 1–19. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02014>
62. Barcomb K., Olah S. S., Kennedy M. J. Properties and modulation of excitatory inputs to the locus coeruleus. *The Journal of Physiology*. 2022. №600 (22). P. 4897–4916. <https://doi.org/10.1113/JP283605>
63. Bari B., Chokshi V., Schmidt K. Locus coeruleus-norepinephrine: basic functions and insights into Parkinson's disease. *Neural Regeneration Research*. 2020. №15 (6). P. 1006–1013. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.270297>
64. Barnes H., Jones K., Blanc P. The hidden history of hypersensitivity pneumonitis. *European Respiratory Journal*. 2022. №59 (1) .P. 1–11. <https://doi.org/10.1183/13993003.00252-2021>
65. Barnes H., Troy L., Lee C. T. Hypersensitivity pneumonitis: Current concepts in pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Allergy*. 2022. №77 (2). P. 442–453. <https://doi.org/10.1111/all.15017>
66. Bassil K., Krontira A. C., Leroy T. In vitro modeling of the neurobiological effects of glucocorticoids: A review. *Neurobiology of Stress*. 2023. №23. P. 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2023.100530>
67. Bastian D., Wu Y., Betts B.C. The IL-12 Cytokine and Receptor Family in Graft-vs.-Host Disease. *Frontiers in Immunology*, 2019. №10. P. 1–13. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00988>
68. Batiha G. E.-S., Beshbishy A. M., Ikram M. The Pharmacological Activity, Biochemical Properties, and Pharmacokinetics of the Major Natural Polyphenolic Flavonoid: Quercetin. *Foods*. 2020. №9 (3). P. 1–16. <https://doi.org/10.3390/foods9030374>

69. Begega A., Jove C. I., López M. Impact of environmental enrichment on the GABAergic neurons and glucocorticoid receptors in the hippocampus and nucleus accumbens of Wistar rats: Pro-resilient effects. *Brain Research Bulletin*. 2023. №200. P. 1–12.
<https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2023.110699>
70. Bellanger A.-P., Reboux G., Rouzet A. Hypersensitivity pneumonitis: A new strategy for serodiagnosis and environmental surveys. *Respiratory Medicine*. 2019. №150. P. 101–106. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2019.02.019>
71. Benko A. L., Wright A. D., Sunyer T. Pituitary neuropeptides and B lymphocyte function. *Scandinavian Journal of Immunology*. 2021. №94 (2). P. 1–15. <https://doi.org/10.1111/sji.13041>
72. Benton K. C., Wheeler D. S., Kurtoglu B. Norepinephrine activates β 1 - adrenergic receptors at the inner nuclear membrane in astrocytes. *Glia*. 2022. №70 (9). P. 1777–1794. <https://doi.org/10.1002/glia.24219>
73. Berardelli I., Serafini G., Cortese N. The Involvement of Hypothalamus–Pituitary–Adrenal (HPA) Axis in Suicide Risk. *Brain Sciences*. 2020. №10 (9). P. 1–12. <https://doi.org/10.3390/brainsci10090653>
74. Berentsen S., Hill A., Hill Q. A. Novel insights into the treatment of complement-mediated hemolytic anemias. *Therapeutic Advances in Hematology*. 2019. №10. P. 1–20. <https://doi.org/10.1177/2040620719873321>
75. 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 Dermato-Venereologica*. 2020. №100 (17). P. 1–7. <https://doi.org/10.2340/00015555-3363>
76. Bernhard S., Hug S., Stratmann A.E.P. Interleukin 8 Elicits Rapid Physiological Changes in Neutrophils That Are Altered by Inflammatory Conditions. *Journal of Innate Immunity*. 2021. №13 (4). P. 225–241. <https://doi.org/10.1159/000514885>
77. Betts M. J., Kirilina E., Otaduy M.C.G. Locus coeruleus imaging as a biomarker for noradrenergic dysfunction in neurodegenerative diseases. *Brain*. 2019. №142 (9). P. 2558–2571. <https://doi.org/10.1093/brain/awz193>

78. Bhaumik S., Lockett J., Cuffe J. Glucocorticoids and Their Receptor Isoforms: Roles in Female Reproduction, Pregnancy, and Foetal Development. *Biology*. 2023. №12 (8). P. 1–27. <https://doi.org/10.3390/biology12081104>
79. Bielenichev, I. F., Vizir, V. A., Mamchur, V. Y. Place of tiotriazoline in the gallery of modern metabolitotropic medicines. *Zaporozhye Medical Journal*. 2019. №21 (1(112)). P. 118–128. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2019.1.155856>
80. Błach J., Mackiewicz B. How much do we know about genetic predisposition of hypersensitivity pneumonitis? *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 2022. №29 (2). P. 306–308. <https://doi.org/10.26444/aaem/148049>
81. Bonaz B., Sinniger V., Pellissier S. The Vagus Nerve in the Neuro-Immune Axis: Implications in the Pathology of the Gastrointestinal Tract. *Frontiers in Immunology*. 2017. №8. P. 1–14. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01452>
82. Boraschi D. What Is IL-1 for? The Functions of Interleukin-1 Across Evolution. *Frontiers in Immunology*. 2022. №13. P. 1–12. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.872155>
83. Bornstein S. R., Chrousos G. P. (1999). Adrenocorticotropin (ACTH)- and Non-ACTH-Mediated Regulation of the Adrenal Cortex: Neural and Immune Inputs. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1999. №84 (5). P. 1729–1736. <https://doi.org/10.1210/jcem.84.5.5631>
84. Bottaccioli A. G., Bologna M., Bottaccioli F. Psychic Life-Biological Molecule Bidirectional Relationship: Pathways, Mechanisms, and Consequences for Medical and Psychological Sciences—A Narrative Review. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022. №23 (7). P. 1–25. <https://doi.org/10.3390/ijms23073932>
85. Bowen A. J., Huang Y. W., Chen J. Y. Topographic representation of current and future threats in the mouse nociceptive amygdala. *Nature Communications*. 2023. №14 (196). P. 1–16. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-35826-4>
86. Cabrini G., Rimessi A., Borgatti M. Role of Cystic Fibrosis Bronchial Epithelium in Neutrophil Chemotaxis. *Frontiers in Immunology*. 2020. №11. P. 1–17. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01438>

87. Cain D. W., Bortner C. D., Diaz-Jimenez D. Murine Glucocorticoid Receptors Orchestrate B Cell Migration Selectively between Bone Marrow and Blood. *The Journal of Immunology*. 2020. №205 (3). P. 619–629.
<https://doi.org/10.4049/jimmunol.1901135>
88. Cain D. W., Cidlowski J. A. Immune regulation by glucocorticoids. *Nature Reviews Immunology*. 2017. №17 (4). P. 233–247.
<https://doi.org/10.1038/nri.2017.1>
89. Cao S., Li J., Yuan J., Zhang D. Fast Localization and Sectioning of Mouse Locus Coeruleus. *BioMed Research International*. 2020. № 2020. P. 1–5.
<https://doi.org/10.1155/2020/4860735>
90. Carneiro-Nascimento S., Powell W., Uebel M. Region- and receptor-specific effects of chronic social stress on the central serotonergic system in mice. *IBRO Neuroscience Reports*. 2021. №10. P. 8–16.
<https://doi.org/10.1016/j.ibneur.2020.11.001>
91. Chachlaki K, Prevot V. Nitric oxide signalling in the brain and its control of bodily functions. *Br J Pharmacol*. 2020. № 177 (24). P. 5437–58.
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/bph.14800>
92. Chang Y.-T., Huang W.-C., Cheng C.-C. Effects of epinephrine on heart rate variability and cytokines in a rat sepsis model. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*. 2020. №20 (1). P. 88–98.
<https://doi.org/10.17305/bjbms.2018.3565>
93. Chekman I. S., Belenichev I. F., Syrovaja A. O. Aspects of the creation of neuroprotective antiinflammatory drugs. *Reports of the National Academy of Sciences of Ukraine*. 2019. №9. P. 88–98.
<https://doi.org/10.15407/dopovidi2019.09.088>
94. Chen C.-S., Barnoud C., Scheiermann C. Peripheral neurotransmitters in the immune system. *Current Opinion in Physiology*. 2021. №19. P. 73–79. <https://doi.org/10.1016/j.cophys.2020.09.009>
95. Chen T., Zhang X., Zhu G. Quercetin inhibits TNF- α induced HUVECs apoptosis and inflammation via downregulating NF- κ B and AP-1 signaling pathway in vitro. *Medicine*. 2020. №99 (38). P. 1–7.
<https://doi.org/10.1097/MD.00000000000022241>

96. Chen X., Tang J., Shuai W., Meng, J., Feng, J., & Han, Z. Macrophage polarization and its role in the pathogenesis of acute lung injury/acute respiratory distress syndrome. *Inflammation Research*. 2020. №69 (9). P. 883–895. <https://doi.org/10.1007/s00011-020-01378-2>
97. Chhatar S., Lal G. Role of adrenergic receptor signalling in neuroimmune communication. *Current Research in Immunology*. 2021. №2. P. 202–217. <https://doi.org/10.1016/j.crimmu.2021.11.001>
98. Chojnowska S., Ptaszyńska-Sarosiek I., Kępka A. Salivary Biomarkers of Stress, Anxiety and Depression. *Journal of Clinical Medicine*. 2021. №10. P. 1–12. <https://doi.org/10.3390/jcm10030517>
99. Chudoba R., Dabrowska J. Distinct populations of corticotropin-releasing factor (CRF) neurons mediate divergent yet complementary defensive behaviors in response to a threat. *Neuropharmacology*. 2023. №228. P.109461. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2023.109461>
100. Churchill B. M., Patri P., Cama R. TNF- α , TNF Receptors and Their Complex Implications in Therapy. *Asian Journal of Immunology*. 2020. №4 (1). P. 36–50. <http://journal.pustakalibrary.com/id/eprint/432>
101. Churg A. Hypersensitivity pneumonitis: new concepts and classifications. *Modern Pathology*. 2022. №35. P. 15–27. <https://doi.org/10.1038/s41379-021-00866-y>
102. Coccheri S. COVID-19: The crucial role of blood coagulation and fibrinolysis. *Internal and Emergency Medicine*. 2020. №15 (8). P. 1369–1373. <https://doi.org/10.1007/s11739-020-02443-8>
103. Constantino A., Moisiadis V. G., Kostaki A. Antenatal Glucocorticoid Exposure Results in Sex-Specific and Transgenerational Changes in Prefrontal Cortex Gene Transcription that Relate to Behavioural Outcomes. *Scientific Reports*. 2019. №9 (764). P. 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37088-3>
104. Cui L.-N., Sun N., Li B.-X. Noradrenaline inhibits complex spikes activity via the presynaptic PKA signaling pathway in mouse cerebellar slices. *Neuroscience Letters*. 2020. №729. P. 135008. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2020.135008>
105. D’Ambrosio F., Caggiano M., Schiavo L. Chronic Stress and Depression in Periodontitis and Peri-Implantitis: A Narrative Review on Neurobiological,

- Neurobehavioral and Immune–Microbiome Interplays and Clinical Management Implications. *Dentistry Journal*. 2022. №10 (3). P. 1–12. <https://doi.org/10.3390/dj10030049>
106. Dabiri M., Jehangir M., Khoshpouri P. Hypersensitivity Pneumonitis: A Pictorial Review Based on the New ATS/JRS/ALAT Clinical Practice Guideline for Radiologists and Pulmonologists. *Diagnostics*. 2022. №12. P. 1–19. <https://doi.org/10.3390/diagnostics12112874>
107. Dai S., Mo Y., Wang Y. Chronic Stress Promotes Cancer Development. *Frontiers in Oncology*. 2020. №10. P. 1–10. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.01492>
108. Daniela M., Catalina L., Ilie O. Effects of Exercise Training on the Autonomic Nervous System with a Focus on Anti-Inflammatory and Antioxidants Effects. *Antioxidants*. 2022. №11 (2). P. 1–34. <https://doi.org/10.3390/antiox11020350>
109. Daskalakis N. P., Meijer O. C., de Kloet E. R. Mineralocorticoid receptor and glucocorticoid receptor work alone and together in cell-type-specific manner: Implications for resilience prediction and targeted therapy. *Neurobiology of Stress*. 2022. №18. P. 1–19. <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2022.100455>
110. de Kloet E. R. Glucocorticoid feedback paradox: a homage to Mary Dallman. *Stress*. 2023. №26 (1). P. 1–19. <https://doi.org/10.1080/10253890.2023.2247090>
111. de Kloet E. R., Joëls M. Mineralocorticoid Receptors and Glucocorticoid Receptors in HPA Stress Responses During Coping and Adaptation. In *Oxford Research Encyclopedia of Neuroscience*. Oxford University Press. 2020. <https://doi.org/10.1093/acrefore/9780190264086.013.266>
112. De Luca R., Davis P. J., Lin H.-Y. Thyroid Hormones Interaction With Immune Response, Inflammation and Non-thyroidal Illness Syndrome. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2021. №8. P. 1–9. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.614030>
113. De Nicola A. F., Meyer M., Guennoun R. Insights into the Therapeutic Potential of Glucocorticoid Receptor Modulators for Neurodegenerative Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020. №21(6). P. 1–16. <https://doi.org/10.3390/ijms21062137>

114. de Silva U., Glover N., Katona C. Prevalence of complex post-traumatic stress disorder in refugees and asylum seekers: systematic review. *BJPsych Open*. 2021. №7. P. 1–11. <https://doi.org/10.1192/bjo.2021.1013>
115. Deepika, Maurya, P. K. Health Benefits of Quercetin in Age-Related Diseases. *Molecules*. 2022. №27 (8). P. 1–14. <https://doi.org/10.3390/molecules27082498>
116. DeLucia J. A., Bitter C., Fitzgerald J. Prevalence of Post-Traumatic Stress Disorder in Emergency Physicians in the United States. *The Western Journal of Emergency Medicine*. 2019. №20 (5). P. 740–746. <https://doi.org/10.5811/westjem.2019.7.42671>
117. Diaz-Salazar C., Bou-Puerto R., Mujal A. M. Cell-intrinsic adrenergic signaling controls the adaptive NK cell response to viral infection. *Journal of Experimental Medicine*. 2020. №217 (4). P. 1–14. <https://doi.org/10.1084/jem.20190549>
118. El-Mansi S., Nightingale T. D. Emerging mechanisms to modulate VWF release from endothelial cells. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 2021. №131. P.105900. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2020.105900>
119. Escoter-Torres L., Caratti G., Mechtidou A. Fighting the Fire: Mechanisms of Inflammatory Gene Regulation by the Glucocorticoid Receptor. *Frontiers in Immunology*. 2019. №10. P. 1–17. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01859>
120. Evans B. A., Merlin J., Bengtsson T. Adrenoceptors in white, brown, and brite adipocytes. *British Journal of Pharmacology*. 2019. №176 (14). P. 2416–2432. <https://doi.org/10.1111/bph.14631>
121. Fadel L., Dacic M., Fonda V. Modulating glucocorticoid receptor actions in physiology and pathology: Insights from coregulators. *Pharmacology & Therapeutics*. 2023. №251. P. 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2023.108531>
122. Farhangi P., Khajehnasiri F. The Prevalence of Depression, Anxiety, and Stress Among Medical Residents: A Cross-Sectional Study in Iran. *ACTA MEDICA IRANICA*. 2020. №58 (9). P. 452–455. <https://doi.org/10.18502/acta.v58i9.4767>

123. Faught E., Schaaf M. J. M. The Mineralocorticoid Receptor Plays a Crucial Role in Macrophage Development and Function. *Endocrinology*. 2023. №164 (10). P. 1–15. <https://doi.org/10.1210/endocr/bqad127>
124. Fauzi M. F., Anuar T. S., Teh L. K. Stress, Anxiety and Depression among a Cohort of Health Sciences Undergraduate Students: The Prevalence and Risk Factors. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2021. №18. P. 1–14. <https://doi.org/10.3390/ijerph18063269>
125. Feary J., Lindstrom I., Huntley C. C. Occupational lung disease: when should I think of it and why is it important? *Breathe*. 2023. №19 (2). P. 1–12. <https://doi.org/10.1183/20734735.0002-2023>
126. Feno S., Butera G., Vecellio Reane D. Crosstalk between Calcium and ROS in Pathophysiological Conditions. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2019. № 2019. P. 1–19. <https://doi.org/10.1155/2019/9324018>
127. Fernández Pérez, E. R., Kong, A. M., Raimundo, K., Koelsch, T. L., Kulkarni, R., & Cole, A. L. Epidemiology of Hypersensitivity Pneumonitis among an Insured Population in the United States: A Claims-based Cohort Analysis. *Annals of the American Thoracic Society*. 2018. № 15 (4). P. 460–469. <https://doi.org/10.1513/AnnalsATS.201704-288OC>
128. Filippi M.-D. Neutrophil transendothelial migration: updates and new perspectives. *Blood*. 2019. №133 (20). P. 2149–2158. <https://doi.org/10.1182/blood-2018-12-844605>
129. Freire B. M., de Melo F. M., Basso A. S. Adrenergic signaling regulation of macrophage function: do we understand it yet? *Immunotherapy Advances*. 2022. №2. P. 1–12. <https://doi.org/10.1093/immadv/ltac010>
130. Freseigna D., Bullitta S., Musella A. Re-Examining the Role of TNF in MS Pathogenesis and Therapy. *Cells*. 2020. №9 (10). P. 1–26. <https://doi.org/10.3390/cells9102290>
131. Fried R. Enzymatic and non-enzymatic assay of superoxide ifilii. *Biochemie*. 1975. Vol. 57. № 5. P. 657–660.
132. Fröhlich E., Wahl R. The forgotten effects of thyrotropin-releasing hormone: Metabolic functions and medical applications. *Frontiers in Neuroendocrinology*. 2019. №52. P. 29–43. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2018.06.006>

133. Furdychko, L. O. Influence of tiotriazoline on the infringed cytokin profile indicators in the six period of formation of pulmonary patients with haulage of experimental pneumonia. *Journal of Education, Health and Sport*. 2017. №7 (4). P. 897–902.
134. Gandhi C. K., Chen C., Amatya S. SNP and Haplotype Interaction Models Reveal Association of Surfactant Protein Gene Polymorphisms With Hypersensitivity Pneumonitis of Mexican Population. *Frontiers in Medicine*. 2021. №7. P. 1–14. <https://doi.org/10.3389/fmed.2020.588404>
135. Gaskill P. J., Khoshbouei, H. Dopamine and norepinephrine are embracing their immune side and so should we. *Current Opinion in Neurobiology*. 2022. №77. P. 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2022.102626>
136. Ghafouri-Fard S., Shoorei H., Khanbabapour Sasi A. The impact of the phytotherapeutic agent quercetin on expression of genes and activity of signaling pathways. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2021. №141. P. 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111847>
137. Gideon A., Sauter C., Fieres J. Kinetics and Interrelations of the Renin Aldosterone Response to Acute Psychosocial Stress: A Neglected Stress System. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2020. №105 (3). P. 762–773. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgz190>
138. Gilvesy A., Husen E., Magloczky Z. Spatiotemporal characterization of cellular tau pathology in the human locus coeruleus–pericoerulear complex by three-dimensional imaging. *Acta Neuropathologica*. 2022. №144 (4). P. 651–676. <https://doi.org/10.1007/s00401-022-02477-6>
139. Goldberg B. S., Ackerman M. E. Antibody-mediated complement activation in pathology and protection. *Immunology & Cell Biology*. 2020. №98 (4). P. 305–317. <https://doi.org/10.1111/imcb.12324>
140. Gomes M. L., Morais A., Cavaleiro Rufo J. The association between fungi exposure and hypersensitivity pneumonitis: a systematic review. *Porto Biomedical Journal*. 2021. №6 (1). P. 1–7. <https://doi.org/10.1097/j.pbj.0000000000000117>
141. Gomez-Rial J., Rivero-Calle I., Salas A. Role of Monocytes/Macrophages in Covid-19 Pathogenesis: Implications for Therapy. *Infection*

- and Drug Resistance*. 2020. №13. P. 2485–2493.
<https://doi.org/10.2147/IDR.S258639>
142. Gotovina J., Bianchini R., Fazekas-Singer J. Epinephrine drives human M2a allergic macrophages to a regulatory phenotype reducing mast cell degranulation in vitro. *Allergy*. 2020. №75 (11). P. 2939–2942. <https://doi.org/10.1111/all.14299>
143. Gray K. J., Gibbs J. E. Adaptive immunity, chronic inflammation and the clock. *Seminars in Immunopathology*. 2022. №44. P. 209–224.
144. Grewal A. K., Singh T. G., Sharma D., Sharma. Mechanistic insights and perspectives involved in neuroprotective action of quercetin. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2021. №140. P. 1–17.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.111729>
145. Grueschow M., Stenz N., Thörn H. Real-world stress resilience is associated with the responsivity of the locus coeruleus. *Nature Communications*. 2021. №12 (2275). P. 1–17. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-22509-1>
146. Guo Y., Cao W., Zhu Y. Immunoregulatory Functions of the IL-12 Family of Cytokines in Antiviral Systems. *Viruses*. 2019. №11 (9). P. 1–12.
<https://doi.org/10.3390/v11090772>
147. Hartmann J., Bajaj T., Klengel C. Mineralocorticoid receptors dampen glucocorticoid receptor sensitivity to stress via regulation of FKBP5. *Cell Reports*. 2021. №35. P. 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.109185>
148. Hasegawa S., Inoue T., Inagi R. Neuroimmune interactions and kidney disease. *Kidney Research and Clinical Practice*. 2019. №38 (3). P. 282–294.
<https://doi.org/10.23876/j.krcp.19.014>
149. Haskova V., Kaslik J., Matejckava M. Novy zpusob stanoveni cirulujicich imunokomplexy w lidskych serech. *Cas. Lek. Ces*. 1977. Vol. 116. № 14. P. 436–437
150. Haykin H., Rolls A. The neuroimmune response during stress: A physiological perspective. *Immunity*. 2021. №54 (9). P. 1933–1947.
<https://doi.org/10.1016/j.immuni.2021.08.023>
151. He J., Zhang J., Ren X. Krebs von den lungen-6 as a clinical marker for hypersensitivity pneumonitis: A meta-analysis and bioinformatics analysis.

- Frontiers in Immunology*. 2022. №13. P. 1–16.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1041098>
152. Herman J. P., Nawreen N., Smail M. A., & Cotella, E. M. (2020). Brain mechanisms of HPA axis regulation: neurocircuitry and feedback in context Richard Kvetnansky lecture. *Stress*. 2020. №23 (6). P. 617–632.
<https://doi.org/10.1080/10253890.2020.1859475>
153. Hershman J. M., Beck-Peccoz P. Discoveries Around the Hypothalamic–Pituitary–Thyroid Axis. *Thyroid*. 2023. №33 (7). P. 785–790.
<https://doi.org/10.1089/thy.2022.0258>
154. Hinterdobler J., Schunkert H., Kessler T. Impact of Acute and Chronic Psychosocial Stress on Vascular Inflammation. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2021. №35 (18). P. 1531–1550.
<https://doi.org/10.1089/ars.2021.0153>
155. Hodge M. X., Henriquez A. R., Kodavanti U. P. Adrenergic and Glucocorticoid Receptors in the Pulmonary Health Effects of Air Pollution. *Toxics*. 2021. №9 (6). P. 1–27. <https://doi.org/10.3390/toxics9060132>
156. Hodo T.W., de Aquino M.T.P., Shimamoto A. Critical Neurotransmitters in the Neuroimmune Network. *Frontiers in Immunology*. 2020. №11. P. 1–26. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01869>
157. Holmes R., Masters C. Epigenetic interconversions of the multiple forms of mouse liver catalase. *FEBS Lett*. 1970. Vol. 11. № 1. P. 45–48.
158. Hori H., & Kim Y. (2019). Inflammation and post-traumatic stress disorder. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*. 2019. №73 (4). P. 143–153.
<https://doi.org/10.1111/pcn.12820>
159. Hosseinzade A., Sadeghi O., Naghdipour Biregani A. Immunomodulatory Effects of Flavonoids: Possible Induction of T CD4+ Regulatory Cells Through Suppression of mTOR Pathway Signaling Activity. *Frontiers in Immunology*. 2019. №10. P. 1–12.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00051>
160. Hueston C. M., Deak T. Corticosterone and progesterone differentially regulate HPA axis and neuroimmune responses to stress in male rats. *Stress*. 2020. №23 (4). P. 368–385. <https://doi.org/10.1080/10253890.2019.1678025>

161. Hughes T. K., Smith E. M. Corticotropin (ACTH) induction of tumor necrosis factor alpha by monocytes. *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents*. 1989. №3 (4). P. 163–166. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2561626>
162. Ince L. M., Weber J., Scheiermann C. Control of Leukocyte Trafficking by Stress-Associated Hormones. *Frontiers in Immunology*. 2019. №9. P. 1–9. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.03143>
163. Jaeger M., Sloot Y. J., Horst R. Ter. Thyrotrophin and thyroxine support immune homeostasis in humans. *Immunology*. 2021. №163 (2). P. 155–168. <https://doi.org/10.1111/imm.13306>
164. Jakob M. O., Murugan S., Klose C.S.N. Neuro-Immune Circuits Regulate Immune Responses in Tissues and Organ Homeostasis. *Frontiers in Immunology*. 2020. №11. P. 1–17. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00308>
165. Jeong Y.-K., Oh Y.-I., Song K.-H. Evaluation of salivary vasopressin as an acute stress biomarker in healthy dogs with stress due to noise and environmental challenges. *BMC Veterinary Research*. 2020. №16 (331). P. 1–9. <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02555-5>
166. Jia W.-Y., Zhang J.-J. Effects of glucocorticoids on leukocytes: Genomic and non-genomic mechanisms. *World Journal of Clinical Cases*. 2022. №10 (21). P. 7187–7194. <https://doi.org/10.12998/wjcc.v10.i21.7187>
167. Jiang Q., Li Z., Tao T. TNF- α in Uveitis: From Bench to Clinic. *Frontiers in Pharmacology*. 2021. №12. P. 1–13. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.740057>
168. Jiang Z., Rajamanickam S., Justice N. J. CRF signaling between neurons in the paraventricular nucleus of the hypothalamus (PVN) coordinates stress responses. *Neurobiology of Stress*. 2019. №11. P. 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2019.100192>
169. Johnson J. D., Barnard D. F., Kulp A. C. Neuroendocrine Regulation of Brain Cytokines After Psychological Stress. *Journal of the Endocrine Society*. 2019. №3 (7). P. 1302–1320. <https://doi.org/10.1210/js.2019-00053>
170. Jorgovanovic D., Song M., Wang L. Roles of IFN- γ in tumor progression and regression: a review. *Biomarker Research*. 2020. №8 (49). P. 1–16. <https://doi.org/10.1186/s40364-020-00228-x>

171. Kabata H., Artis D. Neuro-immune crosstalk and allergic inflammation. *Journal of Clinical Investigation*. 2019. №129 (4). P. 1475–1482. <https://doi.org/10.1172/JCI124609>
172. Kabito G. G., Wami S. D. Perceived work-related stress and its associated factors among public secondary school teachers in Gondar city: a cross-sectional study from Ethiopia. *BMC Research Notes*. 2020. №13 (36). P. 1–7. <https://doi.org/10.1186/s13104-020-4901-0>
173. Kameritsch P., Renkawitz J. Principles of Leukocyte Migration Strategies. *Trends in Cell Biology*. 2020. №30 (10). P. 818–832. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2020.06.007>
174. Kang S., Kishimoto T. Interplay between interleukin-6 signaling and the vascular endothelium in cytokine storms. *Experimental & Molecular Medicine*. 2021. №53 (7). P. 1116–1123. <https://doi.org/10.1038/s12276-021-00649-0>
175. Kang S., Tanaka T., Narazaki M. Targeting Interleukin-6 Signaling in Clinic. *Immunity*. 2019. №50 (4). P. 1007–1023. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.03.026>
176. Kaur S., Bansal Y., Kumar R. A panoramic review of IL-6: Structure, pathophysiological roles and inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2020. №28 (5). P. 115327. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2020.115327>
177. Ke X., Chen Z., Wang X. Quercetin improves the imbalance of Th1/Th2 cells and Treg/Th17 cells to attenuate allergic rhinitis. *Autoimmunity*. 2023. №56 (1). P. 1–10. <https://doi.org/10.1080/08916934.2023.2189133>
178. Kerage D., Sloan E.K., Mattarollo S.R. Interaction of neurotransmitters and neurochemicals with lymphocytes. *Journal of Neuroimmunology*. 2019. №332. P. 99–111. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2019.04.006>
179. Kim B.-G., Malek E., Choi S. H. Novel therapies emerging in oncology to target the TGF- β pathway. *Journal of Hematology & Oncology*. 2021. №14 (55). P. 1–20. <https://doi.org/10.1186/s13045-021-01053-x>
180. Kim I.-B., Lee J.-H., Park S.-C. The Relationship between Stress, Inflammation, and Depression. *Biomedicines*. 2022. №10 (1929). P. 1–14. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10081929>

181. Kokkinopoulou I., Moutsatsou P. Mitochondrial Glucocorticoid Receptors and Their Actions. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. №22 (11). P. 1–22. <https://doi.org/10.3390/ijms22116054>
182. Koning A.-S.C.A.M., Buurstede J. C., van Weert L.T.C.M. Glucocorticoid and Mineralocorticoid Receptors in the Brain: A Transcriptional Perspective. *Journal of the Endocrine Society*. 2019. №3 (10). P. 1917–1930. <https://doi.org/10.1210/js.2019-00158>
183. Koper-Lenkiewicz O. M., Sutkowska K., Wawrusiewicz-Kurylonek N. Proinflammatory Cytokines (IL-1, -6, -8, -15, -17, -18, -23, TNF- α) Single Nucleotide Polymorphisms in Rheumatoid Arthritis—A Literature Review. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022. №23 (4). P. 1–25. <https://doi.org/10.3390/ijms23042106>
184. Korzhov V.I., Zhadan V.M., Polianska M.O. Oxidant and Antioxidant Systems of the Blood in Experimental Pulmonary Emphysema. *Asthma and allergy*. 2022. № 4. P. 38–44. <http://www.ifp.kiev.ua/doc/journals/aa/22/pdf22-4/38.pdf>
185. Krut Y. Y., Shevchenko A. O., Syusyuka V. G. Assessment of the effect of complex therapy of threatened preterm labor on features of stress resistance of pregnant women, obstetrical and perinatal consequences of delivery. *PERINATOLOGIYA I PEDIATRIYA*. 2019. №2 (78). P. 27–31. <https://doi.org/10.15574/PP.2019.78.27>
186. Kryvenko, V., Borodavko, O. Dynamics of indicators of oxidative stress and bone metabolism during treatment with thiotriazolin in patients with combined type 2 diabetes mellitus and osteoporosis course who reside in anthropogenic pressure conditions. *ScienceRise: Medical Science*. 2019. №1 (28). P. 4–7. <https://doi.org/10.15587/2519-4798.2019.155320>
187. Kuo M.-J., Chou R.-H., Lu Y.-W. Premorbid β 1-selective (but not non-selective) β -blocker exposure reduces intensive care unit mortality among septic patients. *Journal of Intensive Care*. 2021. №9 (40). P. 1–10. <https://doi.org/10.1186/s40560-021-00553-9>
188. Kutsuzawa N., Takihara T., Shiraishi Y. Occupational Hypersensitivity Pneumonitis in a Japanese Citrus Farmer. *Internal Medicine*. 2021. №60 (22). P. 3581–3584. <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.7588-21>

189. Kyriacou A., Tziaferi V., Toumba M. Stress, Thyroid Dysregulation, and Thyroid Cancer in Children and Adolescents: Proposed Impending Mechanisms. *Hormone Research in Paediatrics*. 2023. №96 (1). P. 44–53. <https://doi.org/10.1159/000524477>
190. Lago J., Toledo-Arruda A., Mernak M. Structure-Activity Association of Flavonoids in Lung Diseases. *Molecules*. 2014. №19 (3). P. 3570–3595. <https://doi.org/10.3390/molecules19033570>
191. Lakhan R., Agrawal A., Sharma M. Prevalence of Depression, Anxiety, and Stress during COVID-19 Pandemic. *Journal of Neurosciences in Rural Practice*. 2020. №11 (4). P. 519–525. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1716442>
192. Legorreta-Haquet M.V., Santana-Sánchez P., Chávez-Sánchez L. The effect of prolactin on immune cell subsets involved in SLE pathogenesis. *Frontiers in Immunology*. 2022. №13. P. 1–15. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1016427>
193. Letsiou E., Htwe Y.M., Dudek S.M. Secretory Phospholipase A2 Enzymes in Acute Lung Injury. *Cell Biochemistry and Biophysics*. 2021. №79. P. 609–617. <https://doi.org/10.1007/s12013-021-01003-x>
194. Liberman A.C., Budziński M.L., Sokn C. Regulatory and Mechanistic Actions of Glucocorticoids on T and Inflammatory Cells. *Frontiers in Endocrinology*. 2018. №9. P. 1–14. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00235>
195. Lim I.C.Z.Y., Tam W.W.S., Chudzicka-Czupała A. Prevalence of depression, anxiety and post-traumatic stress in war- and conflict-afflicted areas: A meta-analysis. *Frontiers in Psychiatry*. 2022. №13. P. 1–13. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2022.978703>
196. Liu G., Zhai H., Zhang T. New therapeutic strategies for IPF: Based on the “phagocytosis-secretion-immunization” network regulation mechanism of pulmonary macrophages. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2019. №118. P. 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109230>
197. Liu Zhang, Knight Goodwin. The Glucocorticoid Receptor in Cardiovascular Health and Disease. *Cells*. 2019. №8 (10). P. 1–21. <https://doi.org/10.3390/cells8101227>
198. Liy P.M., Puzi N.N.A., Jose S. Nitric oxide modulation in neuroinflammation and the role of mesenchymal stem cells. *Exp Biol Med*.

2021. № 246 (22). P. 2399–406.
<http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1535370221997052>
199. Ma Y., Gao M., Sun H. Interleukin-6 gene transfer reverses body weight gain and fatty liver in obese mice. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*. 2015. №1852 (5). P. 1001–1011.
<https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2015.01.017>
200. Mahmood Z., Davidsson A., Olsson E. The effect of acute exercise on interleukin-6 and hypothalamic–pituitary–adrenal axis responses in patients with coronary artery disease. *Scientific Reports*. 2020. №10. P. 1–9.
<https://doi.org/10.1038/s41598-020-78286-2>
201. Majumdar R., Tavakoli Tameh A., Arya S. B. Exosomes mediate LTB4 release during neutrophil chemotaxis. *PLOS Biology*. 2021. №19 (7). P. 1–28.
<https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3001271>
202. Malouf R., Harrison S., Burton H. A. Prevalence of anxiety and post-traumatic stress (PTS) among the parents of babies admitted to neonatal units: A systematic review and meta-analysis. *EclinicalMedicine*. 2022. №43. P. 1–33. <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2021.101233>
203. Mao L., Wei W., Chen J. Biased regulation of glucocorticoid receptors signaling. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2023. №165. P. 1–12.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.115145>
204. Marek-Jozefowicz L., Czajkowski R., Borkowska A. The Brain–Skin Axis in Psoriasis—Psychological, Psychiatric, Hormonal, and Dermatological Aspects. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022. №23 (2). P. 1–15.
<https://doi.org/10.3390/ijms23020669>
205. Martínez G., Mijares M.R., De Sanctis J. B. Effects of Flavonoids and Its Derivatives on Immune Cell Responses. *Recent Patents on Inflammation & Allergy Drug Discovery*. 2019. №13 (2). P. 84–104.
<https://doi.org/10.2174/1872213X13666190426164124>
206. Martins A.B., Brownlow M.L., Araújo B.B. Arcuate nucleus of the hypothalamus contributes to the hypophagic effect and plasma metabolic changes induced by vasoactive intestinal peptide and pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide. *Neurochemistry International*. 2022. №155. P. 105300. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2022.105300>

207. Mastrorilli C., Pecoraro L., Arasi S. Pediatric hypersensitivity pneumonitis: literature update and proposal of a diagnostic algorithm. *Italian Journal of Pediatrics*. 2022. №48 (51). P. 1–10.
<https://doi.org/10.1186/s13052-022-01239-0>
208. Mazaira G.I., Echeverría P.C., Ciucci S.M. Differential regulation of the glucocorticoid receptor nucleocytoplasmic shuttling by TPR-domain proteins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*. 2021. №1868 (6). P. 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2021.119000>
209. McBurney-Lin J., Lu J., Zuo Y. Locus coeruleus-norepinephrine modulation of sensory processing and perception: A focused review. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2019. №105. P. 190–199.
<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2019.06.009>
210. McElvaney O.J., Curley G.F., Rose-John S. Interleukin-6: obstacles to targeting a complex cytokine in critical illness. *The Lancet Respiratory Medicine*. 2021. №9 (6). P. 643–654. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(21\)00103-X](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(21)00103-X)
211. Meijer O.C., Buurstede J.C., Schaaf M.J.M. Corticosteroid Receptors in the Brain: Transcriptional Mechanisms for Specificity and Context-Dependent Effects. *Cellular and Molecular Neurobiology*. 2019. №39 (4). P. 539–549.
<https://doi.org/10.1007/s10571-018-0625-2>
212. Merk V.M., Renzulli P., Vrugt B. Glucocorticoids are differentially synthesized along the murine and human respiratory tree. *Allergy*. 2023. №78 (9). P. 2428–2440. <https://doi.org/10.1111/all.15765>
213. Mikulska J., Juszczak G., Gawrońska-Grzywacz M. HPA Axis in the Pathomechanism of Depression and Schizophrenia: New Therapeutic Strategies Based on Its Participation. *Brain Sciences*. 2021. №11 (10). P. 1–28.
<https://doi.org/10.3390/brainsci11101298>
214. Miller A.H., Spencer R.L., Pearce B.D. Glucocorticoid Receptors Are Differentially Expressed in the Cells and Tissues of the Immune System. *Cellular Immunology*. 1998. №186 (1). P. 45–54.
<https://doi.org/10.1006/cimm.1998.1293>
215. Mohsin A.A., Thompson J., Hu Y. Endoplasmic reticulum stress-induced complex I defect: Central role of calcium overload. *Archives of*

Biochemistry and Biophysics. 2020. №683. P. 108299. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2020.108299>

216. Moisan M.-P. Sexual Dimorphism in Glucocorticoid Stress Response. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. №22. P. 1–14. <https://doi.org/10.3390/ijms22063139>
217. Mokra Mikolka, Kosutova Mokry. Corticosteroids in Acute Lung Injury: The Dilemma Continues. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019. №20 (19). P. 1–24. <https://doi.org/10.3390/ijms20194765>
218. Mokrani M.-C., Duval F., Erb A. Are the thyroid and adrenal system alterations linked in depression? *Psychoneuroendocrinology*. 2020. №122. P. 104831. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2020.104831>
219. Moldovan H.R., Ionovici N., Nechita F. A Rare Association of Cutaneous Leukocytoclastic Angiitis (Hypersensitivity Vasculitis) and Hypersensitivity Pneumonia (Extrinsic Allergic Alveolitis) in a Pigeon Breeder - Case Report and Literature Review. *Romanian Journal of Morphology and Embryology*. 2019. №60 (1). P. 325–331. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31263863>
220. Morris L.S., McCall J.G., Charney D.S. The role of the locus coeruleus in the generation of pathological anxiety. *Brain and Neuroscience Advances*. 2020. №4. P. 1–18. <https://doi.org/10.1177/2398212820930321>
221. Mueller S.N. Neural control of immune cell trafficking. *Journal of Experimental Medicine*. 2022. №219 (3). P. 1–12. <https://doi.org/10.1084/jem.20211604>
222. Nakie G., Segon T., Melkam M. Prevalence and associated factors of depression, anxiety, and stress among high school students in, Northwest Ethiopia, 2021. *BMC Psychiatry*. 2022. №22 (739). P. 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12888-022-04393-1>
223. Nazari M., Rashidy-Pour A., Ali Vafaei A. Systemic corticosterone administration impairs the late fear memory reconsolidation via basolateral amygdala glucocorticoid receptors: Dependence on the time window and memory age. *Neurobiology of Learning and Memory*. 2023. №203. P. 107797. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2023.107797>

224. Nesterko Y., Jäckle D., Friedrich M. Prevalence of post-traumatic stress disorder, depression and somatisation in recently arrived refugees in Germany: an epidemiological study. *Epidemiology and Psychiatric Sciences*. 2020. №29. P. 1–11. <https://doi.org/10.1017/S2045796019000325>
225. Nicholls A.J., Wen S.W., Hall P. Activation of the sympathetic nervous system modulates neutrophil function. *Journal of Leukocyte Biology*. 2018. №103 (2). P. 295–309. <https://doi.org/10.1002/JLB.3MA0517-194RR>
226. Niu X., Ding Y., Chen S. Effect of Immune Stress on Growth Performance and Immune Functions of Livestock: Mechanisms and Prevention. *Animals*. 2022. № 12 (7). P. 1–19. <https://doi.org/10.3390/ani12070909>
227. Nogueira R., Melo N., Novais e Bastos H. Hypersensitivity pneumonitis: Antigen diversity and disease implications. *Pulmonology*. 2019. №25 (2). P. 97–108. <https://doi.org/10.1016/j.pulmoe.2018.07.003>
228. Nolfi-Donagan D., Braganza A., Shiva S. Mitochondrial electron transport chain: Oxidative phosphorylation, oxidant production, and methods of measurement. *Redox Biology*. 2020. №37. P. 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101674>
229. Ogińska-Bulik N., Gurowiec P.J., Michalska P. Prevalence and predictors of secondary traumatic stress symptoms in health care professionals working with trauma victims: A cross-sectional study. *PLOS ONE*. 2021. №16 (2). P. 1–19. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0247596>
230. Pandya S.M., Pandya A.P., Fels Elliott D.R. Hypersensitivity Pneumonitis. *Immunology and Allergy Clinics of North America*. 2023. №43 (2). P. 245–257. <https://doi.org/10.1016/j.iac.2023.01.011>
231. Panettieri R.A., Schaafsma D., Amrani Y. Non-genomic Effects of Glucocorticoids: An Updated View. *Trends in Pharmacological Sciences*. 2019. №40 (1). P. 38–49. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2018.11.002>
232. Parimon T., Yao C., Stripp B.R. Alveolar Epithelial Type II Cells as Drivers of Lung Fibrosis in Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020. №21. P. 1–22. <https://doi.org/10.3390/ijms21072269>

233. Paul S.N., Wingenfeld K., Otte C. Brain mineralocorticoid receptor in health and disease: From molecular signalling to cognitive and emotional function. *British Journal of Pharmacology*. 2022. №179 (13). P. 3205–3219. <https://doi.org/10.1111/bph.15835>
234. Pena-Olivera R.A., Navarro-Baldellot A.L., Sánchez-Sánchez S. Alveolitis alérgica extrínseca. Informe de un caso. *Extrinsic Allergic Alveolitis. Case Report*. 2022. №61. P. 1–5.
235. Pereira J.O., Fernandes V., Alfaro T.M. Diagnosis of Fibrotic Hypersensitivity Pneumonitis: Is There a Role for Biomarkers? *Life*. 2023. №13 (2). P. 1–32. <https://doi.org/10.3390/life13020565>
236. Picard K., Bisht K., Poggini S. Microglial-glucocorticoid receptor depletion alters the response of hippocampal microglia and neurons in a chronic unpredictable mild stress paradigm in female mice. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2021. №97. P. 423–439. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2021.07.022>
237. Pujols L., Mulla J., Torrego A. Glucocorticoid receptors in human airways. *Allergy*. 2004. №59 (10). P. 1042–1052. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2004.00635.x>
238. Pyrillou K., Burzynski L.C., Clarke M.C.H. Alternative Pathways of IL-1 Activation, and Its Role in Health and Disease. *Frontiers in Immunology*, 2020. №11. P. 1–19. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.613170>
239. Raghu G., Remy-Jardin M., Ryerson C.J. Diagnosis of Hypersensitivity Pneumonitis in Adults: An Official ATS/JRS/ALAT Clinical Practice Guideline. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2020. №202 (3). P. 1–34. <https://doi.org/10.1164/rccm.202005-2032ST>
240. Rainville J.R., Weiss G.L., Evanson N. Membrane-initiated nuclear trafficking of the glucocorticoid receptor in hypothalamic neurons. *Steroids*. 2019. №142. P. 55–64. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2017.12.005>
241. Raise-Abdullahi P., Meamar M., Vafaei A.A. Hypothalamus and Post-Traumatic Stress Disorder: A Review. *Brain Sciences*. 2023. №13 (7). P. 1–31. <https://doi.org/10.3390/brainsci13071010>

242. Rakha A., Umar N., Rabail R. Anti-inflammatory and anti-allergic potential of dietary flavonoids: A review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2022. №156. P. 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113945>
243. Ramón-Arbués E., Gea-Caballero V., Granada-López J.M. The Prevalence of Depression, Anxiety and Stress and Their Associated Factors in College Students. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2020. №17 (19). P. 1–15. <https://doi.org/10.3390/ijerph17197001>
244. Ramos-Martinez E., Ramos-Martínez I., Molina-Salinas G. The role of prolactin in central nervous system inflammation. *Reviews in the Neurosciences*. 2021. №32 (3). P. 323–340. <https://doi.org/10.1515/revneuro-2020-0082>
245. Regeda-Furdychko M.M., Regeda M.S., Regeda S.M. The influence of thiotriazoline on the primary and secondary immune response in the formation of contact dermatitis and pneumonia. *Bulletin of Medical and Biological Research*. 2021. №4. P. 59–62. <https://doi.org/10.11603/bmbr.2706-6290.2020.4.11810>
246. Regeda M. S. The role of disorders of immune processes in the pathogenesis of the formation of periodontitis on the background of experimental pneumonia and their correction tetrazolium. *Journal of Education, Health and Sport*. 2017. №7 (1). P. 350–358. <https://doi.org/10.5281/zenodo.268001>
247. Regeda M. S., Kovalska M. Ye. Corrosive influence on peripheral oxidation of lipids and antioxidant system in lungs in the dynamics of experimental allergenflveolitis in the stress conditions. *Вісник наукових досліджень*. 2018. №1. P. 118–122.
248. Reheda M. S., Melekh B. Y., Kachmarska M. O. Metabolites content of stable forms of nitric oxide in the lungs of guinea pigs with experimental allergic alveolitis in different periods of its formation. *Journal of Education, Health and Sport*. 2017. № 4 (7). P. 707–714.
249. Rehman G., Kumari N., Bano F. Thyroid hormone receptor beta: Relevance in human health and diseases. *Endocrine and Metabolic Science*. 2023. №13. P. 1–17. <https://doi.org/10.1016/j.endmts.2023.100144>

250. Riario Sforza, G.G., Marinou A. Hypersensitivity pneumonitis: a complex lung disease. *Clinical and Molecular Allergy*. 2017. №15 (6). P. 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12948-017-0062-7>
251. Rittig A.H., Hilberg O., Ibsen R. Incidence, comorbidity and survival rate of hypersensitivity pneumonitis: a national population-based study. *ERJ Open Research*. 2019. №5 (4). P. 1–7. <https://doi.org/10.1183/23120541.00259-2018>
252. Rivers C.A., Rogers M.F., Stubbs F.E. Glucocorticoid Receptor–Tethered Mineralocorticoid Receptors Increase Glucocorticoid-Induced Transcriptional Responses. *Endocrinology*. 2019. №160 (5). P. 1044–1056. <https://doi.org/10.1210/en.2018-00819>
253. Roberts B.L., Karatsoreos, I.N. Brain-body responses to chronic stress: a brief review. *Faculty Reviews*. 2021. №10 (83). P. 1–8. <https://doi.org/10.12703/r/10-83>
254. Rochette L., Dogon G., Vergely C. Stress: Eight Decades after Its Definition by Hans Selye: “Stress Is the Spice of Life.” *Brain Sciences*. 2023. №13 (2). P. 1–3. <https://doi.org/10.3390/brainsci13020310>
255. Rodgers K.R., Lin Y., Langan T.J. Innate Immune Functions of Astrocytes are Dependent Upon Tumor Necrosis Factor-Alpha. *Scientific Reports*. 2020. №10. P. 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63766-2>
256. Ross J.A., Reyes B.A.S., Van Bockstaele E.J. Amyloid beta peptides, locus coeruleus-norepinephrine system and dense core vesicles. *Brain Research*. 2019. №1702. P. 46–53. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2018.03.009>
257. Rudziak P., Ellis C.G., Kowalewska P.M. Role and Molecular Mechanisms of Pericytes in Regulation of Leukocyte Diapedesis in Inflamed Tissues. *Mediators of Inflammation*. 2019. №2019. P. 1–9. <https://doi.org/10.1155/2019/4123605>
258. Ryu K., Fukutomi Y., Sekiya K. Identification of fungi causing humidifier lung: 2 rare cases and a review of the literature. *Asia Pacific Allergy*. 2022. №12 (4). P. 1–15. <https://doi.org/10.5415/apallergy.2022.12.e43>
259. Saah F.I., Amu H., Kissah-Korsah K. Prevalence and predictors of work-related depression, anxiety, and stress among waiters: A cross-sectional study

- in upscale restaurants. *PLOS ONE*. 2021. №16 (4). P. 1–18.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0249597>
260. Sadoul B., Geffroy B. Measuring cortisol, the major stress hormone in fishes. *Journal of Fish Biology*. 2019. №94 (4). P. 540–555.
<https://doi.org/10.1111/jfb.13904>
261. Sahin H., Kaproth-Joslin K., Hobbs S.K. Hypersensitivity Pneumonitis. *Seminars in Roentgenology*. 2019. №54 (1). P. 37–43.
<https://doi.org/10.1053/j.ro.2018.12.004>
262. Sahu M., Tripath M.K. Overview of Thyroxine-Induced Changes in Immune Response. *Chhattisgarh Journal of Science and Technology*. 2022. №19 (2). P. 1–4.
263. Sakamoto S., Furukawa M., Shimizu H. Clinical and radiological characteristics of ultrasonic humidifier lung and summer-type hypersensitivity pneumonitis. *Respiratory Medicine*. 2020. №174. P. 1–6.
<https://doi.org/10.1016/j.rmed.2020.106196>
264. Salmen T., Strâmbu I. (2019). Hypersensitivity Pneumonitis in a Teenager. *Pneumologia*. 2019. №68 (2). P. 75–81.
<https://doi.org/10.2478/pneum-2019-0005>
265. Santos V., Martins N., Sousa C. Hypersensitivity pneumonitis: Main features characterization in a Portuguese cohort. *Pulmonology*. 2020. №26 (3). P. 130–137. <https://doi.org/10.1016/j.pulmoe.2019.09.004>
266. Sarasola M. de la P., Táquez Delgado M.A., Nicoud M.B. Histamine in cancer immunology and immunotherapy. Current status and new perspectives. *Pharmacology Research & Perspectives*. 2021. №9. P. 1–28.
<https://doi.org/10.1002/prp2.778>
267. Sato S., Mukai Y. Modulation of Chronic Inflammation by Quercetin: The Beneficial Effects on Obesity. *Journal of Inflammation Research*. 2020. №13. P. 421–431. <https://doi.org/10.2147/JIR.S228361>
268. Schillemans M., Karampini E., Kat M. Exocytosis of Weibel–Palade bodies: how to unpack a vascular emergency kit. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2019. №17 (1). P. 6–18. <https://doi.org/10.1111/jth.14322>

269. Schmidt H, Hofmann H, Schindler U. NO from NO synthase USA: Proceedings of the National Academy of Sciences. 1996. Vol. 93. P. 14492–14497.
270. Schoppmeyer R., van Buul J.D. The diapedesis synapse: dynamic leukocyte-endothelium interactions. *Current Opinion in Physiology*. 2021. №19. P. 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.cophys.2020.06.003>
271. Sciolino N.R., Hsiang M., Mazzone C.M. Natural locus coeruleus dynamics during feeding. *Science Advances*. 2022. №8. P. 1–14. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abn9134>
272. Shah H., Eisenbarth S., Tormey C.A. Behind the scenes with basophils: an emerging therapeutic target. *Immunotherapy Advances*. 2021. №1. P. 1–15. <https://doi.org/10.1093/immadv/ltab008>
273. Sharifi-Rad J., Quispe C., Zam W. Phenolic Bioactives as Antiplatelet Aggregation Factors: The Pivotal Ingredients in Maintaining Cardiovascular Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2021. №2021. P. 1–19. <https://doi.org/10.1155/2021/2195902>
274. Sharma D., Farrar, J.D. Adrenergic regulation of immune cell function and inflammation. *Seminars in Immunopathology*. 2020. №42 (6).P. 709–717. <https://doi.org/10.1007/s00281-020-00829-6>
275. Shimba A., Ikuta, K. Control of immunity by glucocorticoids in health and disease. *Seminars in Immunopathology*. 2020. №42 (6). P. 669–680. <https://doi.org/10.1007/s00281-020-00827-8>
276. Shin M.-G., Bae, Y., Afzal R. Olfactory modulation of stress-response neural circuits. *Experimental & Molecular Medicine*. 2023. №55 (8). P. 1659–1671. <https://doi.org/10.1038/s12276-023-01048-3>
277. Sieminska I., Pejsak Z. Impact of stress on the functioning of the immune system, swine health, and productivity. *Medycyna Weterynaryjna*. 2022. №78 (11). P. 541–547. <https://doi.org/10.21521/mw.6673>
278. 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. *The Open Dentistry Journal*. 2019. №13. P. 332–338. <https://doi.org/10.2174/1874210601913010332>

279. Singh M., Goel N.K., Sharma M.K. Prevalence of Depression, Anxiety and Stress among Students of Punjab University, Chandigarh. *National Journal of Community Medicine*. 2017. №8 (11). P. 666–671.
280. Sridharan R., Cavanagh B., Cameron A.R. Material stiffness influences the polarization state, function and migration mode of macrophages. *Acta Biomaterialia*. 2019. №89. P. 47–59.
<https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.02.048>
281. Sterclova M., Kremlackova V., Mottlova V. Quantitative assessment of specific serum IgGs may verify source of environmental exposure in extrinsic allergic alveolitis (EAA). *Cogent Medicine*. 2021. №8 (1). P. 1–15.
<https://doi.org/10.1080/2331205X.2021.1894688>
282. Stolk R.F., van der Pasch E., Naumann F. Norepinephrine Dysregulates the Immune Response and Compromises Host Defense during Sepsis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2020. №202 (6). P. 830–842. <https://doi.org/10.1164/rccm.202002-0339OC>
283. Strehl C., Ehlers L., Gaber T. Glucocorticoids—All-Rounders Tackling the Versatile Players of the Immune System. *Frontiers in Immunology*. 2019. №10. P. 1–20. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01744>
284. Sullivan A., Shrestha P., Lanham T. Bird Fancier’s lung: An underdiagnosed etiology of dyspnea. *Respiratory Medicine Case Reports*. 2020. №31. P. 1–4. <https://doi.org/10.1016/j.rmcr.2020.101288>
285. Sun L., Zhu M., Wang M. Whole-brain monosynaptic inputs and outputs of leptin receptor b neurons of the nucleus tractus solitarii in mice. *Brain Research Bulletin*. 2023. №201. P. 1–12.
<https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2023.110693>
286. Tancini B., Buratta S., Delo F. Lysosomal Exocytosis: The Extracellular Role of an Intracellular Organelle. *Membranes*. 2020. №10 (12). P. 1–21.
<https://doi.org/10.3390/membranes10120406>
287. Teh Y.C., Ding J.L., Ng L.G. Capturing the Fantastic Voyage of Monocytes Through Time and Space. *Frontiers in Immunology*. 2019. №10. P. 1–9. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00834>
288. Tian R., Hou G., Li D. A Possible Change Process of Inflammatory Cytokines in the Prolonged Chronic Stress and Its Ultimate Implications for

- Health. *The Scientific World Journal*. 2014. №2014. P. 1–8.
<https://doi.org/10.1155/2014/780616>
289. Timmermans S., Souffriau J., Libert C.A General Introduction to Glucocorticoid Biology. *Frontiers in Immunology*. 2019. №10. P. 1–17.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01545>
290. Travers J.B., Rohan J.G., Sahu R.P. New Insights Into the Pathologic Roles of the Platelet-Activating Factor System. *Frontiers in Endocrinology*. 2021. №12. P. 1–12. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.624132>
291. Tsai S.-J. Role of interleukin 8 in depression and other psychiatric disorders. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 2021. №106. P. 110173. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2020.110173>
292. Tyagi A., Jadhav S., Waghmare M. Bagassosis, rare cause of hypersensitivity pneumonitis: A case report. *IBEROAMERICAN JOURNAL OF MEDICINE*. 2020. №4. P. 381–384.
<https://doi.org/10.5281/zenodo.3834307>
293. Ullrich K.A.-M., Schulze L. Lou, Paap E.-M. Immunology of IL-12: An update on functional activities and implications for disease. *EXCLI Journal*. 2020. №19. P. 1563–1589. <https://doi.org/10.17179/excli2020-3104>
294. Unver N., McAllister F. (2018). IL-6 family cytokines: Key inflammatory mediators as biomarkers and potential therapeutic targets. *Cytokine & Growth Factor Reviews*. 2018. №41. P. 10–17.
<https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2018.04.004>
295. Vasakova M., Selman M., Morell F. Hypersensitivity Pneumonitis: Current Concepts of Pathogenesis and Potential Targets for Treatment. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2019. №200 (3). P. 301–308. <https://doi.org/10.1164/rccm.201903-0541PP>
296. Vassiliadi D.A., Vassiliou A.G., Ilias I. Pituitary–Adrenal Responses and Glucocorticoid Receptor Expression in Critically Ill Patients with COVID-19. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. №22 (21). P. 1–13.
<https://doi.org/10.3390/ijms222111473>
297. Velazquez-Salinas L., Verdugo-Rodriguez A., Rodriguez L.L. The Role of Interleukin 6 During Viral Infections. *Frontiers in Microbiology*. 2019. №10. P. 1–6. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01057>

298. Velmurugan B.K., Baskaran R., Huang, C.-Y. Detailed insight on β -adrenoceptors as therapeutic targets. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2019. №117. P. 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109039>
299. Vettorazzi S., Nalbantoglu D., Gebhardt J.C.M. A guide to changing paradigms of glucocorticoid receptor function—a model system for genome regulation and physiology. *The FEBS Journal*. 2022. №289 (19). P. 5718–5743. <https://doi.org/10.1111/febs.16100>
300. Vyunytska L.V., Yuzvenko T.Y., Dashuk T.I. Stress-induced changes in a body's vital functions. Review. *Clinical Endocrinology and Endocrine Surgery*. 2022. №2. P. 49–60. <https://doi.org/10.30978/CEES-2022-2-49>
301. Walters G.I., Mokhlis J.M., Moore. Characteristics of hypersensitivity pneumonitis diagnosed by interstitial and occupational lung disease multi-disciplinary team consensus. *Respiratory Medicine*. 2019. №155. P. 19–25. <https://doi.org/10.1016/j.rmed.2019.06.026>
302. Wang H., Zhou J., Guo X. Use of glucocorticoids in the management of immunotherapy-related adverse effects. *Thoracic Cancer*. 2020. №11 (10). P. 3047–3052. <https://doi.org/10.1111/1759-7714.13589>
303. Wang L.J., Cai H.R., Xiao Y.L. Clinical characteristics and outcomes of hypersensitivity pneumonitis: A population-based study in China. *Chinese Medical Journal*. 2019. №132 (11). P. 1283–1292. <https://doi.org/10.1097/CM9.0000000000000256>
304. Wang X.-P., Xie W.-P., Bi Y.-F. Quercetin suppresses apoptosis of chondrocytes induced by IL-1 β via inactivation of p38 MAPK signaling pathway. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2021. №21 (468). P. 1–11. <https://doi.org/10.3892/etm.2021.9899>
305. Wawszczak M., Bielecka T., Szczukocki M. (2021). Hypersensitivity pneumonitis in children. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 2021. №28 (2). P. 214–219. <https://doi.org/10.26444/aaem/118830>
306. West N.R. Coordination of Immune-Stroma Crosstalk by IL-6 Family Cytokines. *Frontiers in Immunology*. 2019. №10. P. 1–16. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01093>
307. Wijn A.N., Fokkema M., Doef M.P. The prevalence of stress-related outcomes and occupational well-being among emergency nurses in the

- Netherlands and the role of job factors: A regression tree analysis. *Journal of Nursing Management*. 2022. №30 (1). P. 187–197.
<https://doi.org/10.1111/jonm.13457>
308. Xia S. Hypersensitivity Pneumonitis: Perspective in Diagnosis and Pathology. *E3S Web of Conferences*. 2020. №185. P. 1–5.
<https://doi.org/10.1051/e3sconf/202018503002>
309. Xiang D., Wang H., Sun S. GRP Receptor Regulates Depression Behavior via Interaction With 5-HT_{2a} Receptor. *Frontiers in Psychiatry*. 2020. №10. P. 1–9. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2019.01020>
310. Xu Dan, Mu R., Wei X. The Roles of IL-1 Family Cytokines in the Pathogenesis of Systemic Sclerosis. *Frontiers in Immunology*. 2019. №10. P. 1–8. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02025>
311. Xu Dong, Hu M.-J., Wang Y.-Q. Antioxidant Activities of Quercetin and Its Complexes for Medicinal Application. *Molecules*. 2019. №24 (6). P. 1–15. <https://doi.org/10.3390/molecules24061123>
312. Xu X., Kaindl J., Clark M.J. Binding pathway determines norepinephrine selectivity for the human β 1AR over β 2AR. *Cell Research*. 2021. №31 (5). P. 569–579. <https://doi.org/10.1038/s41422-020-00424-2>
313. Yan J., Chen Y., Luo M. Chronic stress in solid tumor development: from mechanisms to interventions. *Journal of Biomedical Science*. 2023. №30 (8). P. 1–25. <https://doi.org/10.1186/s12929-023-00903-9>
314. Yang D. Wang T., Long M. Quercetin: Its Main Pharmacological Activity and Potential Application in Clinical Medicine. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2020. №2020. P. 1–13.
<https://doi.org/10.1155/2020/8825387>
315. Yang Q., Tian L., Li S. Semen Sojæ Praeparatum improves anxiety in mice by inhibiting HPA axis hyperactivity and modulating gut microbiota. *Journal of Functional Foods*. 2022. №98. P. 1–9.
<https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.105282>
316. Yap B.J.M., Lai-Foenander A.S., Goh B.H. Unraveling the Immunopathogenesis and Genetic Variants in Vasculitis Toward Development of Personalized Medicine. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2021. №8. P. 1–13. <https://doi.org/10.3389/fcvm.2021.732369>

317. Zahiruddin Othman Vevehkanandar S. Depression, Anxiety, and Stress among Secondary School Teachers in Klang, Malaysia. *International Medical Journal*. 2019. №26 (2). P. 71–74.
318. Zelek W.M., Xie L., Morgan B.P., & Harris, C. L. (2019). Compendium of current complement therapeutics. *Molecular Immunology*. 2019. №114. P. 341–352. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2019.07.030>
319. Zhang L., Pan J., Chen W. Chronic stress-induced immune dysregulation in cancer: implications for initiation, progression, metastasis, and treatment. *American Journal of Cancer Research*. 2020. №10 (5). P. 1294–1307. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32509380>
320. Zhang S., Hu J., Liu G. Chronic clomipramine treatment increases hippocampal volume in rats exposed to chronic unpredictable mild stress. *Translational Psychiatry*. 2022. №12 (245). P. 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41398-022-02006-9>
321. Zhebel V.M., Strazhynska, O.L. New opportunities of using an ischemic cascade blocker in the therapy of acute myocardial infarction. *EMERGENCY MEDICINE*. 2022. №18 (1). P. 35–41. <https://doi.org/10.22141/2224-0586.18.1.2022.1456>
322. Zhou E., Li Q., Xu R. Covalent conjugation with quercetin mitigates allergenicity of the bee pollen allergen Bra c p in a murine model. *Food Chemistry*. 2024. №436. P. 137722. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137722>
323. Zhou L., Wang T., Yu Y. The etiology of poststroke-depression: a hypothesis involving HPA axis. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2022. №151. P. 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113146>
324. Zhu J., Fan J., Xia Y. Potential therapeutic targets of macrophages in inhibiting immune damage and fibrotic processes in musculoskeletal diseases. *Frontiers in Immunology*. 2023. №14. P. 1–20. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1219487>
325. Zucchi R. Thyroid Hormone Analogues: An Update. *Thyroid*. 2020. №30 (8). P. 1099–1105. <https://doi.org/10.1089/thy.2020.0071>

ДОДАТОК А.1

„ЗАТВЕРДЖУЮ”

192

Проректор з наукової роботи
Тернопільського національного медичного
університету ім. І.Я. Горбачевського
професор І.М. Кліш



” _____ 2023 р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Роль порушень метаболічних та імунних процесів у патогенезі формування експериментального алергічного альвеоліту і іммобілізаційного стресу та їх фармакологічна корекція.
2. **Установа-розробник:** Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького кафедра патологічної фізіології.
Розроблювачі: Галій-Луцька В.В.
Джерело інформації: 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.
- 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”

Проректор з науково-педагогічної
роботи закладу вищої освіти
Буковинського державного
медичного університету
доцент Володимир КОЛОДОВСЬКИЙ

„13” _____ 2023 р.



АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Роль порушень метаболічних та імунних процесів у патогенезі формування експериментального алергічного альвеоліту і іммобілізаційного стресу та їх фармакологічна корекція.
2. **Установа-розробник:** Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького кафедра патологічної фізіології.
Розроблювачі: Галій-Луцька В.В.
Джерело інформації: 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.
- 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.3

„ЗАТВЕРДЖУЮ”

Проректор з наукової роботи
Львівського медичного університету
професор Ю.В. Федоров



2023 р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Пропозиція для впровадження:** Роль порушень метаболічних та імунних процесів у патогенезі формування експериментального алергічного альвеоліту і іммобілізаційного стресу та їх фармакологічна корекція.
- 2. Установа-розробник:** Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького кафедра патологічної фізіології.
Розроблювачі: Галій-Луцька В.В.
Джерело інформації: 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.
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 4

„ЗАТВЕРДЖУЮ”

195

В.о. Першого проректора Івано-Франківського національного медичного університету
д.фарм.н., професор Андрій ГРИЦІК

„19/12” 2023 р.



АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Роль порушень метаболічних та імунних процесів у патогенезі формування експериментального алергічного альвеоліту і іммобілізаційного стресу та їх фармакологічна корекція.
2. **Установа-розробник:** Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького кафедра патологічної фізіології.
Розроблювачі: Галій-Луцька В.В.
Джерело інформації: 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.
- 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.5

„ЗАТВЕРДЖУЮ”

196

Перший проректор з науково-педагогічної
роботи Львівського національного
медичного університету
імені Данила Галицького
к.біол.н., доцент І.І. Солонинко

« 16 » 11 2023 р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** Роль порушень метаболічних та імунних процесів у патогенезі формування експериментального алергічного альвеоліту і іммобілізаційного стресу та їх фармакологічна корекція.
2. **Установа-розробник:** Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького кафедра патологічної фізіології.
Розроблювачі: Галій-Луцька В.В.
Джерело інформації: 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.
- 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. 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 (13). С. 41-48. (Особистий внесок - самостійно виконано дослідження, статистично опрацьовано отримані результати, написано текст та сформульовано висновки).

2. Регеда М.С., Галій-Луцька В.В. Особливості змін ІЛ-10 крові в умовах експериментального поєднання алергічного альвеоліту та іммобілізаційного стресу і його фармакологічної корекції. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2023. №1-2 (71-72). С. 164-171. (Особистий внесок - самостійно виконано дослідження, статистично опрацьовано отримані результати, написано текст та сформульовано висновки).

3. Регеда М.С., Галій-Луцька В.В. Значення коригуючого впливу корвітину та тіотриазоліну на рівні деяких прозапальних цитокінів у крові при експериментальному поєднанні алергічного альвеоліту та іммобілізаційного стресу. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2023. №3 (73). С. 132-145. (Особистий внесок - самостійно виконано дослідження, статистично опрацьовано отримані результати, написано текст та сформульовано висновки).

4. 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 (74). С. 113-124.

(Особистий внесок - самостійно виконано дослідження, статистично опрацьовано отримані результати, написано текст та сформульовано висновки).

5. Регеда М.С., Галій-Луцька В.В. Визначення ефективності корвітину та тіотриазоліну щодо корекції відхилень параметрів прооксидантно-антиоксидантної системи при експериментальному алергічному альвеоліті в умовах іммобілізаційного стресу. *Вісник морської медицини*. 2023. №4 (101). С. 52-59.

6. Galii-Lutska V.V. The effect of the combination of thiotriazoline and corvitin on the values of some parameters of the cellular and humoral immune system during the experimental reproduction of allergic alveolitis under immobilization stress. *Journal of Education, Health and Sport*. 2022; №12(10): P. 373-380.

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

7. Регеда М.С., Галій-Луцька В.В. Роль інтерлейкіну-6 в крові в патогенезі розвитку коморбідної патології – іммобілізаційного стресу та експериментального алергічного альвеоліту. *Матеріали Пленуму Українського наукового товариства патофізіологів «Особливості науково-педагогічного процесу в період пандемії COVID-19»* 15-17 вересня 2022. Тернопіль, 2022. С. 71-72. *(Особистий внесок - самостійно виконано дослідження, статистично опрацьовано отримані результати, написано текст та сформульовано висновки).*

8. 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.91-93. *(Особистий внесок - самостійно виконано дослідження, статистично опрацьовано отримані результати, написано текст та сформульовано висновки).*

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)*;