

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД  
«ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМЕНІ І.Я.ГОРБАЧЕВСЬКОГО»

**КОЛІШЕЦЬКА МАРТА АНДРІЇВНА**

УДК: 616.24-002-008.6-056.3-057-092:612.017]-08-092.9

**РОЛЬ ПОРУШЕНЬ ІМУННОЇ СИСТЕМИ ТА НЕСПЕЦИФІЧНОЇ РЕЗИСТЕНТНОСТІ  
ОРГАНІЗМУ В ПАТОГЕНЕЗІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АЛЕРГІЧНОГО  
АЛЬВЕОЛІТУ ТА ЇХ ФАРМАКОЛОГІЧНА КОРЕКЦІЯ**

14.03.04 – патологічна фізіологія

**АВТОРЕФЕРАТ**

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата медичних наук

Тернопіль-2010

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького МОЗ України

**Науковий керівник:** Заслужений працівник освіти України, доктор медичних наук, професор **Регада Михайло Степанович**, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького МОЗ України, завідувач кафедри патологічної фізіології.

**Офіційні опоненти:**

Заслужений діяч науки і техніки України, лауреат державної премії України в галузі науки і техніки, доктор медичних наук, професор **Бажора Юрій Іванович**, Одеський державний медичний університет МОЗ України, завідувач кафедри клінічної імунології, генетики і медичної біології;

доктор медичних наук, професор **Роговий Юрій Євгенович**, Буковинський державний медичний університет МОЗ України, завідувач кафедри патологічної фізіології.

Захист відбудеться 26 березня 2010 р. об 11 год. на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 58.601.01 у державному вищому навчальному закладі “Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського” МОЗ України (46001, м. Тернопіль, Майдан Волі, 1)

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці державного вищого навчального закладу “Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського” МОЗ України (46001, м. Тернопіль, вул. Січових Стрільців, 8)

Автореферат розісланий 23 лютого 2010 р.

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради

доктор медичних наук, професор

Боднар Я.Я.

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Серед великої групи алергічних захворювань бронхолегеневої системи особливе місце посідає екзогенний алергічний альвеоліт.

На сьогодні вважається, що екзогенний алергічний альвеоліт – це імунологічно індуковане запалення легеневої паренхіми, при якому в патологічний процес втягуються стінки альвеол і термінальних бронхіол, що виникає унаслідок повторних інгаляцій органічного пилу.

Основними причинами розвитку даної патології як у дорослих, так і у дітей, можуть бути алергени птахів, хом'яків, котів, собак, кроликів, дафнії, бібліотечний та домашній пил, плісеневі та дріжджоподібні гриби, лікарські засоби тощо (Aberer W., Woltsche M., Woltsche-Kahr I., 2001, Регеда М.С., 2007;).

Зараз уже відомі етіологічні фактори захворювання, проте патогенез його формування до кінця не з'ясований. Саме тому вивчення патогенетичних механізмів формування алергічного альвеоліту є предметом всебічного дослідження як вчених експериментаторів, так і клініцистів. Сучасна концепція патогенезу цього захворювання допускає участь не тільки гуморальних, але й клітинних механізмів імунної відповіді. Повністю невивченим нині залишається питання, що стосується ролі та особливостей порушення функціонального стану клітинного і гуморального імунітету і неспецифічної резистентності організму в патогенезі експериментального алергічного альвеоліту, зокрема, в динаміці його формування. У плані корекції порушень імунного гомеостазу за умов розвитку імунокомплексних захворювань перспективним є застосування біофлавоноїдів. Особливе зацікавлення науковців викликає природний флавоноїд-кверцетин, а саме – його водорозчинна форма – корвітин, який виявляє імуномодулюючі, антиоксидантні, протизапальні, протинабрякові та антигістамінні властивості (Качмарська М.О., Чоп'як В.В., Любінець Л.А., 2007; Пороховська Н.В., Никитюк Г.П., 2007)

У доступній нам літературі відсутні дослідження, які стосуються вивченню впливу корвітину на показники клітинного і гуморального імунітету та неспецифічної резистентності організму морських свинок в динаміці розвитку експериментального алергічного альвеоліту. Це визначає актуальність проведених нами експериментальних досліджень та вказує на доцільність пошуку нових способів корекції, викликаних патологічних змін.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертація є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи кафедри патологічної фізіології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького “Патофізіологічні механізми розвитку алергічних і запальних процесів на різних рівнях організації, особливості реактивності організму та їх фармакологічна корекція” (№ державної реєстрації 0106U012669). Дисертант є співвиконавцем теми.

Тема дисертації затверджена проблемною комісією МОЗ і АМН України “Патологічна фізіологія та імунологія” (протокол № 66 від 22 травня 2008 року).

**Мета дослідження:** з'ясувати особливості змін функціонального стану гуморального та клітинного імунітету і неспецифічної резистентності організму та їх роль у патогенезі експериментального алергічного альвеоліту та встановити вплив на них корвітину.

**Завдання дослідження:**

1. Вивчити зміни показників клітинного імунітету в крові у динаміці розвитку експериментального алергічного альвеоліту.
2. Дослідити вміст імуноглобулінів та В-лімфоцитів у крові морських свинок за умов розвитку експериментального алергічного альвеоліту.
3. З'ясувати рівень циркулюючих імунних комплексів та комплементарної активності сироватки крові в процесі формування цієї імунокомплексної патології.
4. Визначити порушення показників неспецифічної резистентності організму в крові тварин в різні періоди розвитку цієї експериментальної моделі хвороби.
5. Встановити коригуючий вплив корвітину на порушені показники гуморального і клітинного імунітету та неспецифічної резистентності організму морських свинок за умов формування алергічного альвеоліту.

*Об'єкт дослідження:* гіперімунокомплексний процес, відтворений на морських свинках із використанням експериментальної моделі алергічного альвеоліту.

*Предмет дослідження:* показники імунологічної реактивності та неспецифічної резистентності організму інтактних тварин і морських свинок з експериментальним алергічним альвеолітом до та після корекції корвітином.

*Методи дослідження:*

- імунологічні – для визначення вмісту В- і Т-лімфоцитів, теофілінчутливих і теофілінрезистентних субпопуляцій Т-лімфоцитів, циркулюючих імунних комплексів різних розмірів, комплементарної активності сироватки крові, імуноглобулінів А, М, G; для визначення фагоцитарної активності лейкоцитів у крові;
- математичні: опрацювання цифрових даних методом варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента.

**Наукова новизна отриманих результатів.** Уперше на комплексному методичному підході вивчено порушення функціонального стану клітинного та гуморального імунітету, неспецифічної резистентності організму в динаміці розвитку експериментального алергічного альвеоліту та доведена їх участь в механізмах його формування. Вперше встановлено, що на 34-у, 44-у і 54-у доби розвитку алергічного альвеоліту поступово знижується рівень Т-лімфоцитів та теофілінчутливих і теофілінрезистентних субпопуляцій Т-лімфоцитів у крові, комплементарної

активності сироватки крові та підвищується вміст імуноглобулінів А, М, G, В-лімфоцитів, циркулюючих імунних комплексів з найсуттєвішим вираженням їх змін на 64-у добу експерименту. Вперше показано, що за умови формування алергічного альвеоліту (на 34-у, 44-у і 54-у доби) спостерігається активізація фагоцитарної активності лейкоцитів та навпаки зниження її на 64-у добу цієї імунокомплексної патології. Вперше доведена коригуюча дія корвітину на порушені показники гуморального і клітинного імунітету, неспецифічної резистентності організму, які виникли за умов розвитку алергічного альвеоліту.

**Практичне значення отриманих результатів.** Результати проведених досліджень розширюють існуючі уявлення про патогенез алергічного альвеоліту, а також роль у цих механізмах гуморального та клітинного імунітету, фагоцитарної активності лейкоцитів і вплив на ці процеси корвітину. Виражена імунокоригуюча дія корвітину вказує на доцільність та перспективність його подальшого експериментального з метою корекцій цих порушень при алергічному альвеоліті.

Результати дослідження впроваджені у навчальний процес на кафедрах патологічної фізіології Івано-Франківського національного медичного університету, державного вищого навчального закладу “Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського”, на кафедрі анатомії, фізіології та патології Львівського медичного інституту, на кафедрах загальної та клінічної фармакології Одеського державного медичного університету, на кафедрах клінічної імунології та алергології, фармакології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, що підтверджено актами впровадження.

**Особистий внесок здобувача.** Автором відповідно до поставленої мети і завдань дослідження самостійно було проведено пошук, огляд літератури за темою дисертації, обґрунтовано програму досліджень, відтворено модель алергічного альвеоліту у тварин, вивчено методику дослідження. Самостійно виконала усю експериментальну роботу. Особисто проведено статистичне опрацювання одержаних результатів, написано і оформлено дисертацію і автореферат. Висновки сформульовано разом з науковим керівником. Дисертаційна робота є особистою науковою працею здобувача. В опублікованих зі співавторами наукових працях здобувачу належить основна ідея, практичний матеріал та їх узагальнення. У тій частині актів впровадження, що стосується науково-практичної новизни, викладено фактичні дані, які одержані дисертантом.

**Апробація результатів дисертації.** Основні результати роботи були оприлюднені на засіданні Львівського наукового товариства патофізіологів (Львів, 2007), на 1-ій науково-практичній конференції “Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм” (Тернопіль, 2008), на Всеукраїнській науково-практичній конференції “Сучасні наукові досягнення-2008” (Миколаїв, 2008), на XII конгресі Світової Федерації українських лікарських

товариств (Івано-Франківськ, 2008), на III Міжнародній науково-практичній конференції “Проблеми та перспективи методичних підходів до аналізу стану здоров’я” (Луганськ, 2009).

**Публікації.** За матеріалами дисертації надруковано 8 наукових праць, з них 4 статті у провідних фахових виданнях ВАК України та 4 тези доповідей на міжнародних науково-практичних конференціях та конгресах.

**Обсяг та структура дисертації.** Дисертаційна робота викладена на 156 сторінках комп’ютерного тексту, містить вступ, огляд літератури, розділ з описом матеріалів і методів досліджень, 6 розділів власних досліджень, висновки, список використаних джерел (всього 334 джерела, з них 103 іноземних), а також 6 додатків. Робота ілюстрована 34 таблицями, 9 рисунками. Бібліографічний опис літературних джерел та додатки викладені на 43 сторінках.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

**Матеріали та методи дослідження.** Експериментальні дослідження проведені на 155 морських свинках (125 самців з алергічним альвеолітом та 30 інтактних тварин) масою 250-300 г. Тварин утримували на стандартному раціоні віварію.

Досліди на тваринах виконували з дотриманням ухвали Першого національного конгресу з біоетики про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та наукових цілей (Київ, 2001). Експериментальні дослідження проводились на кафедрі патологічної фізіології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

У даній роботі нами використана класична модель алергічного альвеоліту, запропонована О.О. Ореховим, Ю.А. Кириловим (1985).

Модель експериментального алергічного альвеоліту (АА) відтворювали шляхом введення 0,2 мл повного ад’юванта Фрейнда в задню лапку морської свинки. Через 2 тижні після імунізації 6 разів з інтервалом 10 діб внутрішньотрахеально вводили 0,2 мл суспензії вбитих БЦЖ.

Використовували гомогенат БЦЖ в емульсії вазелінового масла для першого введення з метою нагромадження антигену в легеневій тканині. В подальших дослідженнях застосовували 1% суспензію вбитих БЦЖ у фізіологічному сольовому розчині як антиген на 14-у, 24-у, 34-у, 44-у, 54-у і 64-у доби експерименту. Усіх тварин розподіляли на шість груп:

перша – складала контроль, інтактні (30) морські свинки;

друга – морські свинки (25) з експериментальним АА (34-а доба від початку введення антигену), до лікування корвітином;

третья – морські свинки (25) з експериментальним АА (44-а доба від початку введення антигену) до лікування корвітином;

четверта – морські свинки (25) з експериментальним АА (54-а доба від початку введення антигену) до лікування корвітином;

п'ята – морські свинки (25) з експериментальним АА (64-а доба від початку введення антигену) до лікування корвітином;

шоста – тварини (25) з експериментальним АА після лікування корвітином, який застосовували з розрахунку 4 мг на 100 г маси тіла доочередно впродовж 10 днів з 54-ої до 64-ої доби експерименту.

Умовно виділяли два періоди розвитку експериментального АА: ранній і пізній.

Ранній період включав групу тварин із АА на 34 і 44-у доби експерименту.

Пізній – морські свинки на 54 і 64-у доби АА.

Визначення тестів, які відображають функціональний стан клітинного (Т-лімфоцити, теофілінчутливі і теофілінрезистентні субпопуляції Т-лімфоцитів) та гуморального імунітету – В-лімфоцити, імуноглобуліни А, М, G, комплементарна активність сироватки крові (КАСК), циркулюючі імунні комплекси (ЦК) і неспецифічної резистентності організму (НСТ-тест, фагоцитарний індекс, фагоцитарне число, показник пошкодження нейтрофілів (ППН) і показник пошкодження лімфоцитів (ППЛ) у крові здійснювали в інтактних морських свинок і за умов експериментального алергічного альвеоліту на 34, 44, 54 і 64-у доби розвитку цієї імунокомплексної патології, а також до та після застосування корвітину.

Визначення Т-лімфоцитів (Е-РОЛ) та В-лімфоцитів у крові здійснювали за методом Е.Ф.Чернушенко, Л.С.Когосова (1981).

Проводили визначення вмісту теофілінчутливих і теофілінрезистентних субпопуляцій Т-лімфоцитів у крові за методом S.Limatibul, A.Shote (1978), вмісту імуноглобулінів А, М, G в крові за методом Е.Ф.Чернушенко, Л.С.Когосова (1981) та визначення КАСК за методом М.М.Вавілова, Л.В.Козлова, Т.В.Голосова (1984).

Кількість циркулюючих імунних комплексів визначали за методом V.Haskova, J.Kaslik, J.Math (1977) за допомогою ПЕГІКЕМ-тесту, а ФАЛ в крові – методом В.В.Меншікова (1987).

Дослідження НСТ-тесту в крові проводили за методом М.Е.Віксмана, А.Н. Маянського (1987).

Здійснювали визначення ППН і ППЛ у крові за методом С.Favor (1969).

Статистичне опрацювання цифрових даних проводилось загальноприйнятими методами з обчислюванням критерія Стьюдента на ПЕВМ "Robotron" (мова Basic). Статистично достовірними вважалися результати, для яких  $P < 0,05$ .

**Результати досліджень та їх обговорення.** З метою вивчення особливостей змін функціонального стану клітинного імунітету у морських свинок визначали Т-лімфоцити,

теофілінрезистентні та теофілінчутливі субпопуляції Т-лімфоцитів в крові в різні періоди розвитку алергічного альвеоліту.

На початкових етапах формування експериментального АА (34-у і 44-у доби) встановлено зниження вмісту Т-лімфоцитів у крові відповідно на 16,6% ( $P<0,05$ ) і 21,1 % ( $P<0,05$ ) проти контрольних величин. У четвертій групі морських свинок з АА показано і надалі зниження Т-лімфоцитів на 25,2% ( $P<0,05$ ), а у найбільш пізній етап експерименту (64-у добу) встановили найнижчу величину падіння на 29,1%, ( $P<0,05$ ) в порівнянні із групою здорових тварин, що свідчить про пригнічення клітинного імунітету.

Важливе значення для всебічного оцінювання стану клітинного імунітету має дослідження теофілінрезистентних субпопуляцій Т-лімфоцитів (Т-р-Е-РОЛ) у крові. Нами встановлено, що тривалість алергічного альвеоліту суттєво впливає на рівень Т-р-Е-РОЛ у крові за умов формування цього захворювання. Так, на початку розвитку експериментального АА (на 34-у добу) спостерігається незначне зниження вмісту теофілінрезистентних субпопуляцій Е-РОЛ у крові на 10,6% ( $P<0,05$ ) у порівнянні з контролем.

У третьої групи тварин встановлено подальше зниження Т-р-Е-РОЛ на 18,0% ( $P<0,05$ ), а пізніше на 54-у добу – на 22,4% ( $P<0,05$ ) і найнижчі цифрові величини були в п'ятій групі морських свинок з найтривалішим періодом розвитку АА; вони знижувалися на 31,9% ( $P<0,05$ ) проти показника групи інтактних тварин.

Отже, як показують одержані результати в усіх групах морських свинок з експериментальним АА (тривалістю хвороби від 34 до 64 діб) спостерігається поступове зниження теофілінрезистентних Т-лімфоцитів в крові, що може вказувати на порушення функціонального стану клітинної ланки імунітету.

Важливим доповненням для комплексної оцінки клітинної ланки імунітету служить визначення теофілінчутливих субпопуляцій Е-РОЛ (Т-ч-Е-РОЛ) у крові. Встановлено, що у другій групі тварин відбулось зниження Т-ч-Е-РОЛ на 24,8% ( $P<0,05$ ) у порівнянні з величинами контрольної групи. Пізніше на 44, 54, 64-у доби АА спостерігалось подальше поступове зниження вмісту Т-ч-Е-РОЛ відповідно на 35,7% ( $P<0,05$ ), 43,0% ( $P<0,05$ ) і 49% ( $P<0,05$ ) проти групи інтактних морських свинок.

Ці дані дозволяють зробити висновок про те, що експериментальний алергічний альвеоліт супроводжується пригніченням клітинного імунітету у всіх досліджуваних групах тварин з найбільшим ступенем вираження його на 64-у добу.

Використання корвітину спричинило підвищення вмісту Е-РОЛ у крові на 32,7% ( $P<0,05$ ), теофілінрезистентних субпопуляцій Е-РОЛ на відповідно на 31,9% ( $P<0,05$ ), Т-ч-Е-РОЛ – на 69,0% ( $P<0,05$ ) проти групи морських свинок з АА до лікування, що свідчить про імунокоригуючий вплив цього препарату на зазначені тести.



Це дає можливість говорити про доцільність проведення подальших як експериментальних, так і клінічних досліджень з метою застосування корвітину в пульмонологічній та алергологічній клініках для лікування хворих з екзогенним алергічним альвеолітом.

Огляд медичної літератури з проблеми вивчення дії корвітину на показники рівня імуноглобулінів у крові при алергічному альвеоліті як в експерименті, так і в клініці, показав, що з цього питання немає жодних публікацій за останні двадцять років. Тому нам важливо було провести дослідження власне в такому аспекті за умов експериментального АА в динаміці його формування, зокрема визначення рівня імуноглобулінів А, М, G, В-лімфоцитів в крові на 34, 44, 54 і 64-у доби до та після застосування препарату корвітину.

Результати дослідження показали, що рівень імуноглобулінів А зростав у тварин другої та третьої груп при експериментальній моделі хвороби відповідно на 45,4% ( $P<0,05$ ) і 90,9% ( $P<0,05$ ) у порівнянні з показниками контрольних величин. У більш пізні етапи (на 54 і 64-у доби) формування алергічного альвеоліту виявлено подальше підвищення цього показника відповідно на 118,1% ( $P<0,05$ ) і 118,2% ( $P<0,05$ ) проти групи інтактних тварин, що свідчить очевидно про активацію синтезу імуноглобулінів А зокрема, та стимуляцію гуморального імунітету в цілому.

Визначення іншого показника гуморального імунітету – імуноглобуліну М у крові в залежності від тривалості дії антигену показало його зростання на 50,0% ( $P<0,05$ ) і 64,2% ( $P<0,05$ ) відповідно в тварин другої та третьої групи при АА в порівнянні з інтактними морськими свинками.

Згодом на 54 і 64-у доби експериментальної моделі хвороби спостерігається подальше підвищення рівня Ig М у крові відповідно на 64,2% ( $P<0,05$ ) і 121,4% ( $P<0,001$ ) проти показників контрольних величин.

Таким чином, різні періоди формування експериментальної моделі хвороби суттєво впливають на досліджуваний тест в крові, який зростає і досягає найвищих величин у найпізніший термін (64-а доба) алергічного альвеоліту.

Важливим доповненням для більш глибокої та всебічної характеристики стану гуморального імунітету є визначення у крові тварин при АА не тільки рівня Ig А, М, але й іншого показника – імуноглобуліну G.

Результати досліджень показали, що в другої та третьої групи тварин при АА підвищується рівень Ig G у крові відповідно на 24,1% ( $P<0,05$ ) і 27,5% ( $P<0,05$ ) у порівнянні з контролем.

У пізні періоди розвитку (на 54 і 64-у доби) експериментальної моделі хвороби надалі поступово зростає рівень Ig G на 39,6% ( $P<0,05$ ) і на 43,1% ( $P<0,05$ ) проти величин інтактних тварин.

Як видно з отриманих даних, найвищий ступінь вмісту імуноглобуліну G у крові був у п'ятій групі морських свинок з АА (на 64-у добу), що говорить про пряму залежність часу

антигенного впливу на рівень Ig G та здатність організму адекватно відповідати захисною реакцією на дію пошкоджуючого фактора.

Дослідження іншого показника, який також характеризує стан гуморального імунітету, були В-лімфоцити (ЕАС-РОЛ), що визначали у крові морських свинок в різні періоди формування експериментального алергічного альвеоліту (34-у, 44-у, 54-у і 64-у доби) показало їх зростання відповідно на 19,3% ( $P<0,05$ ), 25,8% ( $P<0,05$ ), 32,2% ( $P<0,05$ ), 38,7% ( $P<0,05$ ) у порівнянні з контрольними величинами, що свідчить про активацію функціонального стану гуморальної ланки імунітету при АА.

Застосування корвітину призвело до значного зниження вмісту Ig A, M, G і В-лімфоцитів у крові відповідно на 41,6% ( $P<0,05$ ), 45,1% ( $P<0,05$ ), 26,5% ( $P<0,05$ ) і 27,4% ( $P<0,05$ ) при АА порівняно з групою тварин, які не піддавалися впливу цього препарату, що говорить про імунокоригуючий вплив цього лікарського засобу на досліджувані тести.

Особливий інтерес мають результати досліджень, які присвячені вивченню вмісту ЦІК у крові в залежності від періодів розвитку АА. Так, у ранній період розвитку експериментального алергічного альвеоліту (на 34-у добу) показники великих ЦІК зростали на 177,0% у крові проти першої групи морських свинок. Пізніше на 44, 54 і 64-у доби експериментальної моделі хвороби спостерігалось також підвищення рівня великих ЦІК відповідно на 156,2% ( $P<0,05$ ), 110,4% ( $P<0,05$ ) і 43,7% ( $P<0,05$ ) у порівнянні з величинами контролю (рис. 1).

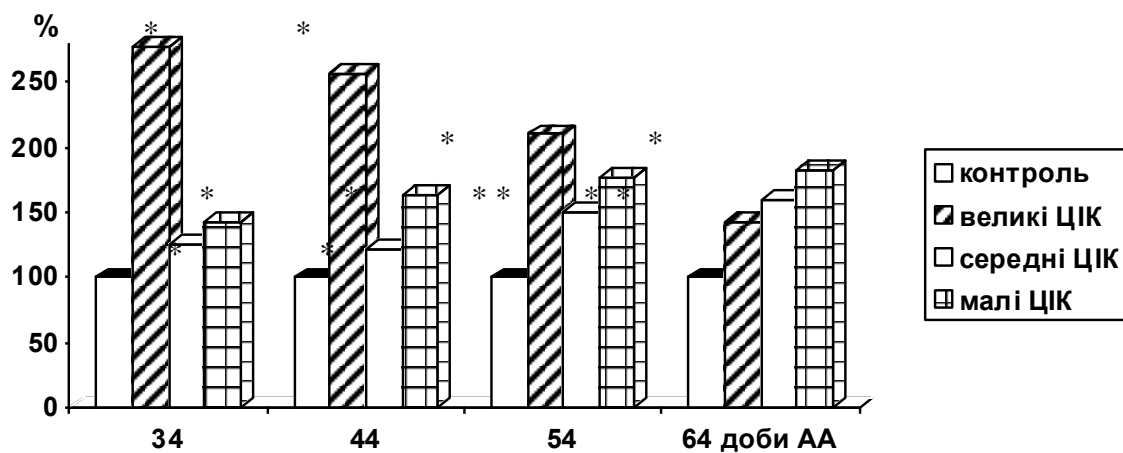


Рис. 1. Вміст малих, середніх та великих розмірів ЦІК у крові в різні періоди розвитку алергічного альвеоліту (у % від контролю) ( $P<0,05$ ).

\* – ймовірна різниця порівняно з контрольною групою

Дослідження (концентрації і молекулярної маси) середніх розмірів циркулюючих імунних комплексів у крові показали поступове їх зростання в крові в залежності від тривалості введення антигену при АА. У тварин другої та третьої групи з АА виявлено підвищення рівня середніх ЦІК

відповідно на 25,9% ( $P<0,05$ ) і на 22,2% ( $P<0,05$ ) проти інтактних тварин. Пізній період розвитку АА (на 54 та 64-у доби) призводив до ще інтенсивнішого утворення середніх ЦК. Останні зростали в крові відповідно на 50,0% ( $P<0,05$ ) і 59,2% ( $P<0,05$ ) при АА порівняно з групою здорових тварин, що свідчить про їх участь у формуванні АА та пошкоджуючий вплив на організм.

Вивчення концентрації малих розмірів ЦК у крові після багаторазового введення антигену (на 34, 44, 54 і 64-у доби) показало їх зростання відповідно на 43,3% ( $P<0,05$ ), 63,8% ( $P<0,05$ ), 77,1% ( $P<0,05$ ) і 83,1% ( $P<0,05$ ) при АА в порівнянні з контролем, що свідчить про стимуляцію гуморального імунітету. Вважається, що утворення малих ЦК відбувається за умови більшої переваги концентрації антигену над концентрацією антитіл. Вони також погано елімінуються з організму та тривалий період персистують в циркуляції і мають пошкоджуючу дію на організм.

Привертають увагу результати дослідження з вивчення рівня комплементарної активності сироватки крові за умови розвитку експериментального алергічного альвеоліту в різні його періоди (на 34, 44, 54 і 64-у доби). Виявлено поступове зниження КАСК відповідно на 14,4% ( $P<0,05$ ), 16,9% ( $P<0,05$ ), 18,4% ( $P<0,05$ ) і 21,1% ( $P<0,05$ ) в порівнянні з величинами контролю, що може свідчити про посилене використання компонентів комплементарної системи для зв'язування та елімінацію ЦК з кровоплину фагоцитуючими клітинами (рис. 2).

Рис. 2. Комплементарна активність сироватки крові в різні періоди розвитку алергічного альвеоліту ( % від контролю) ( $P<0,05$ ).

\* – ймовірна різниця в порівнянні з контрольною групою

Таким чином, результати проведених досліджень окремих показників імунної системи – вмісту ЦК малих, середніх і великих розмірів та комплементарної активності сироватки крові в динаміці розвитку алергічного альвеоліту показали зростання концентрації усіх розмірів циркулюючих імунних комплексів та поступове зниження КАСК, що дає можливість стверджувати про участь одного з провідних механізмів пошкодження тканин – III типу алергічних реакцій в патогенезі цієї експериментальної моделі хвороби.

Застосування препарату корвітину спричинило зниження рівня великих ЦК при АА на 28,9% ( $P<0,05$ ), середніх ЦК на 29,0% ( $P<0,05$ ) і малих ЦК відповідно на 42,7% ( $P<0,05$ ) та підвищення показника комплементарної активності сироватки крові на 17,6% ( $P<0,05$ ) проти групи морських свинок, яким не вводився цей препарат (рис. 3).

Рис. 3. Вплив корвітину на рівень великих, середніх та малих розмірів ЦІК у крові при алергічному альвеоліті (% від контролю) ( $P < 0,05$ ).

\* – ймовірна різниця в порівнянні з групою тварин до лікування

Важливі результати були отримані при дослідженні деяких показників неспецифічної резистентності організму в периферичній крові інтактних тварин, а також з експериментальною моделлю хвороби до і після лікування корвітином (фагоцитарний індекс, фагоцитарне число, НСТ-тест без і після стимуляції), які дають можливість охарактеризувати фагоцитарну ланку імунітету. Це дозволило глибше зрозуміти деякі ланки патогенезу експериментального алергічного альвеоліту в контексті оцінки цих тестів з іншими, дослідженими в попередніх розділах дисертаційної роботи.

Результати проведених досліджень показали, що у тварин другої та третьої групи при АА відбувається зростання фагоцитарного індексу (ФІ) в крові відповідно на 6,6% ( $P < 0,05$ ) і на 27,1% ( $P < 0,05$ ) проти показників контролю. У пізньому періоді експерименту (54-а доба) спостерігається подальше його підвищення на 37% ( $P < 0,05$ ), а на 64-у добу виявлене, навпаки, незначне зниження ФІ в крові на 5,0% ( $P < 0,05$ ) у порівнянні з першою групою тварин.

Визначення фагоцитарного числа (ФЧ) у периферичній крові показало його зростання на 87,6% ( $P < 0,05$ ), на 103,0% ( $P < 0,05$ ) і на 120,0% ( $P < 0,05$ ) відповідно у тварин другої, третьої та четвертої групи з алергічним альвеолітом проти показників контрольних величин, що свідчить про стимуляцію фагоцитарної активності лейкоцитів. Пізніше на 64-у добу експерименту виявлено протилежні зміни ФЧ, яке знижувалось на 20,0% в порівнянні з групою інтактних тварин.

Дослідження НСТ-тесту (без стимуляції) у крові морських свинок при експериментальному алергічному альвеоліті показало підвищення його показників на 34, 44 і 54-у доби відповідно на 60,0% ( $P < 0,05$ ), 102,8% ( $P < 0,05$ ) і 104,2% ( $P < 0,05$ ), а в пізній період формування цієї імунотоксичної патології (64-а доба) даний показник не зазнавав змін і знаходився на рівні контрольних величин.

Вивчення НСТ-тесту (після стимуляції) у периферичній крові тварин другої, третьої та четвертої групи з експериментальним АА показало підвищення його рівня відповідно на 7,9% ( $P < 0,05$ ), 34,2% ( $P < 0,05$ ), 35,7% ( $P < 0,05$ ), а на 64-у добу встановлено зворотні зміни – зниження цього показника на 6,9% ( $P < 0,05$ ) проти контрольних величин.

Застосування корвітину спричинило незначне зростання ФІ на 14,6% ( $P < 0,05$ ), фагоцитарного числа на 17,3% ( $P < 0,05$ ), рівня НСТ-тесту на 20,5% ( $P < 0,05$ ) проти групи морських свинок, яким не застосовувався цей лікарський засіб. Це свідчить про його коригуючий вплив на ці показники за умов розвитку експериментального алергічного альвеоліту.

Дослідження рівня показника пошкодження нейтрофілів у тварин другої та третьої групи при АА показано зростання його відповідно на 40,0% ( $P < 0,05$ ) і 160,0% ( $P < 0,05$ ) в порівнянні з контролем. Пізніше, на 54-у добу алергічного альвеоліту цей показник і надалі прогресивно зростав на 480% ( $P < 0,001$ ) проти величин контрольної групи. У пізній період формування алергічного альвеоліту (64-а доба) утримується незначне підвищення ППН на 40,0% ( $P < 0,05$ ) у порівнянні з тваринами першої групи.

Важливе значення для розуміння окремих ланок патогенезу цієї імунокомплексної патології мають результати досліджень показника пошкодження лімфоцитів, які показали, що у ранній період розвитку (на 34-у і 44-у доби) алергічного альвеоліту спостерігається зростання його у периферичній крові на 100,0% ( $P < 0,05$ ) і на 100% ( $P < 0,05$ ) в порівнянні з контрольними величинами.

Вивчення ППЛ на 54-у і 64-у доби експерименту дало змогу встановити і надалі однонаправленість його змін у крові. Цей показник був підвищений відповідно на 133,2% ( $P < 0,05$ ) і на 133,3% ( $P < 0,05$ ) проти контролю.

Таким чином, визначення показників пошкодження нейтрофілів та лімфоцитів показало їх зростання в периферичній крові всіх досліджуваних груп морських свинок за умов розвитку алергічного альвеоліту. Проте максимальні величини цих показників спостерігалися у найпізніші терміни формування алергічного альвеоліту, що свідчить про суттєвий вплив різних періодів АА на зазначені тести.

Застосування корвітину призвело до зниження ППН на 28,5% ( $P < 0,05$ ) та ППЛ на 28,3% ( $P < 0,05$ ) у крові проти групи морських свинок з АА, яким не вводився цей препарат, що свідчить про його позитивну дію на досліджувані тести.

Таким чином, проведене комплексне імунологічне дослідження ланок гуморального та клітинного імунітету, неспецифічної резистентності організму в крові інтактних морських свинок та в тварин з експериментальним алергічним альвеолітом у різні періоди його розвитку до та після застосування корвітину показали, що визначення рівнів Т і В-лімфоцитів, теофілінчутливих і теофілінрезистентних субпопуляцій Т-лімфоцитів, ЦІК, КАСК, НСТ-тесту, ППН, ППЛ, ФЧ, ФІ – має важливе значення для характеристики особливостей змін функціонального стану імунної системи, їх ролі в перебігу, активності імунопатологічного процесу та патогенезу, діагностики та лікування алергічного альвеоліту.

Фактичний матеріал, що одержаний і описаний в дисертаційній роботі, дозволив поглибити та розширити існуючі знання про механізми розвитку експериментального АА, удосконалити діагностику за допомогою визначення показників імунної системи і неспецифічної резистентності організму в крові та лікування з використанням препарату корвітину.

Препарат корвітин, не дивлячись на виявлений коригуючий вплив на показники імунної системи в крові тварин при АА, потребує проведення подальших як експериментальних, так і клінічних досліджень з метою вивчення його дії та можливого застосування в пульмонологічних і терапевтичних клініках для хворих на екзогенний алергічний альвеоліт.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення наукового завдання, спрямованого на з'ясування особливостей порушень функціонального стану гуморального і клітинного імунітету та неспецифічної резистентності організму в різні періоди формування експериментального алергічного альвеоліту. Запропоновано новий підхід щодо корекції порушень, які викликані експериментальним алергічним альвеолітом за допомогою корвітину.

1. Алергічний альвеоліт (на 34-у, 44-у, 54-у доби) супроводжується поступовим зниженням рівня Т-лімфоцитів, теофілінрезистентних та теофілінчутливих субпопуляцій Т-лімфоцитів у крові, з найнижчим ступенем їх вираження на 64-у добу експерименту, відповідно на 29,1% ( $P < 0,05$ ), 31,9% ( $P < 0,05$ ), 49,0% ( $P < 0,05$ ).

2. Експериментальний алергічний альвеоліт характеризується активацією гуморального імунітету на усіх етапах його формування (34, 44, 54, 64-у доби), яка проявлялась підвищенням вмістом імуноглобулінів А, М, G та В-лімфоцитів в крові відповідно на 118,2% ( $P < 0,05$ ), 121,4% ( $P < 0,001$ ), 43,1% ( $P < 0,05$ ), 38,7% ( $P < 0,05$ ).

3. Розвиток алергічного альвеоліту супроводжується найбільшим зростанням концентрації великих циркулюючих імунних комплексів на 177,0% ( $P < 0,05$ ) на 34-у добу експерименту, середніх та малих циркулюючих імунних комплексів відповідно на 59,2% ( $P < 0,05$ ), 83,1% ( $P < 0,05$ ) на 64-у добу модельного процесу, та зниженням комплементарної активності сироватки крові на 21,1% ( $P < 0,05$ ) на 64-у добу експерименту, а також в інші періоди (34, 44, 54-і доби) цієї імунокомплексної патології, що свідчить про їх активну участь в патологічному процесі.

4. За умови формування (на 44-у і 54-у доби) алергічного альвеоліту спостерігається суттєве зростання фагоцитарного індексу відповідно на 27,1% ( $P < 0,05$ ), 37,0% ( $P < 0,05$ ), фагоцитарного числа на 103,0% ( $P < 0,05$ ), 120,0% ( $P < 0,05$ ), рівня НСТ-тесту в крові на 102,8% ( $P < 0,05$ ), 104,2% ( $P < 0,05$ ).

5. Експериментальний алергічний альвеоліт зумовив підвищення показника пошкодження нейтрофілів у всіх періодах експерименту, особливо у четвертій групі тварин на 480,0% ( $P < 0,001$ ), та поступове збільшення показника пошкодження лімфоцитів з найбільшим ступенем його вираження на 64-у добу експерименту, відповідно на 133,3% ( $P < 0,05$ ).

6. Застосування корвітину на тлі алергічного альвеоліту призвело до зниження концентрації циркулюючих імунних комплексів великих на 28,9% ( $P<0,05$ ), середніх на 29,0% ( $P<0,05$ ), малих розмірів на 42,7% ( $P<0,05$ ); вмісту імуноглобулінів А, М, G і В-лімфоцитів відповідно на 41,6% ( $P<0,05$ ), 45,1% ( $P<0,05$ ), 26,5% ( $P<0,05$ ) і 27,4% ( $P<0,05$ ) та зростання рівня Т-лімфоцитів на 32,7% ( $P<0,05$ ) і показників комплементарної активності сироватки крові на 17,6% ( $P<0,05$ ).

7. Використання корвітину спричиняє коригуючий вплив на фагоцитарну функцію нейтрофілів крові за умов розвитку алергічного альвеоліту, зокрема, зростали фагоцитарний індекс на 14,6% ( $P<0,05$ ), фагоцитарне число на 17,3% ( $P<0,05$ ) та рівень НСТ-тесту на 20,5% ( $P<0,05$ ).

### СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Колішецька М. А. Характеристика окремих компонентів гуморального імунітету крові морських свинок у динаміці формування експериментального алергічного альвеоліту і корекція їх порушень корвітином / М. А. Колішецька // Одеський медичний журнал. – 2008. – № 6 (110). – С. 13–14.

2. Кресюн В. Й. Особливості фагоцитарної активності лейкоцитів за умов розвитку експериментального алергічного альвеоліту на різних етапах формування та корекція його корвітином / В. Й. Кресюн, М. А. Колішецька // Досягнення біології та медицини. – 2008. – № 2 (12). – С. 80–83. (Здобувачем проведено моделювання АА, дослідження ФІ, ФЧ, НСТ-тесту, оцінені результати і зроблені висновки).

3. Регеда М. С. Циркулюючі імунні комплекси в крові морських свинок в динаміці розвитку експериментального алергічного альвеоліту та корекція їх порушень / М. С. Регеда, М. А. Колішецька // Медична гідрологія та реабілітація. – 2008. – Т. 6, № 3. – С. 66–68. (Здобувачем відтворено модель АА, проведено визначення ЦК в крові, оцінені результати і зроблені висновки).

4. Регеда М. С. Стан окремих показників клітинного імунітету в морських свинок при експериментальному алергічному альвеоліті в різні періоди розвитку та корекція їх порушень / М. С. Регеда, М. А. Колішецька // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2009. – № 1 (45). – С. 45–47. (Здобувачем проведено моделювання АА, дослідження Т-лімфоцитів, Т-ч-Е-РОЛ, Т-р-Е-РОЛ, аналіз одержаних даних).

5. Колішецька М. А. Вміст Т і В-лімфоцитів у крові морських свинок за умов розвитку експериментального алергічного альвеоліту та корекція їх порушень / М. А. Колішецька // Здобутки клінічної та експериментальної медицини. – 2008. – № 2 (9). – С. 128–129.

6. Колішецька М. А. Комплементарна активність сироватки крові в морських свинок за умов розвитку експериментального алергічного альвеоліту та її корекція корвітином / М. А. Колішецька // XII конгрес Світової федерації українських лікарських товариств, 25-28 вересня 2008 р. : тези доп. – Івано-Франківськ, 2008. – С. 182.

7. Регада М. С. НСТ-тест, як один з показників функціонального стану лейкоцитів при експериментальному алергічному альвеоліті в різні періоди розвитку та корекція його порушень / М. С. Регада, М. А. Колішецька // Сучасні наукові дослідження-2008: Всеукраїнська науково-практична конференція, 29-30 листопада 2008 р.: збірник матеріалів конф. – Миколаїв, 2008. – Т. II. – С. 96–98. (Здобувачем проведено моделювання АА, дослідження НСТ-тесту, застосування корвітину, аналіз отриманих результатів).

8. Регада М. С. Рівень імуноглобулінів А і М у крові морських свинок в динаміці формування експериментального алергічного альвеоліту та корекція їх змін корвітином / М. С. Регада, М. А. Колішецька // Проблеми та перспективи методичних підходів до аналізу стану здоров'я : III Міжнародна науково-практична конференція, 26-27 березня 2009 р. : тези доп. – Луганськ, 2009. – С. 73. (Здобувачем здійснено моделювання АА, визначення імуноглобулінів А, М, оцінені результати).

## АНОТАЦІЯ

**Колішецька М.А. Роль порушень імунної системи та неспецифічної резистентності організму в патогенезі експериментального алергічного альвеоліту та їх фармакологічна корекція. – Рукопис.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія. Державний вищий навчальний заклад “Тернопільський державний медичний університет імені І.Я.Горбачевського” МОЗ України, Тернопіль, 2010.

Дисертаційна робота присвячена вивченню особливостей порушень функціонального стану клітинної та гуморальної ланок імунітету, показників неспецифічної резистентності організму в патогенезі алергічного альвеоліту залежно від періодів його розвитку та корекція їх корвітином.

Дослідження проведено на 155 морських свинках (самцях). Вперше встановлено, що на 34-у, 44-у, 54-у доби розвитку алергічного альвеоліту поступово знижується рівень Т-лімфоцитів та теофілінчутливих і теофілінрезистентних субпопуляцій Т-лімфоцитів у крові, комплементарної активності сироватки крові та підвищується вміст імуноглобулінів А, М, G, В-лімфоцитів, циркулюючих імунних комплексів з найбільших ступенем їх вираження на 64-у добу експерименту. Вперше показано, що за умови формування алергічного альвеоліту (на 34-у, 44-у, 54-у доби) спостерігається активізація фагоцитарної активності лейкоцитів і навпаки – її зниження на



64-у добу цієї імунокомплексної патології. Вперше доведена коригуюча дія корвітину на порушені показники гуморального і клітинного імунітету, неспецифічної резистентності організму, які виникли за умов розвитку алергічного альвеоліту.

**Ключові слова:** експериментальний алергічний альвеоліт, імунна система, корвітин.

## АННОТАЦІЯ

**Колишецкая М.А. Роль нарушений иммунной системы и неспецифической резистентности организма в патогенезе экспериментального аллергического альвеолита и их фармакологическая коррекция. – Рукопись.**

Диссертация на соискание научной степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.04 – патологическая физиология. Государственное высшее учебное заведение «Тернопольский государственный медицинский университет имени И.Я.Горбачевского» МЗ Украины, Тернополь, 2010.

Диссертационная работа посвящена изучению особенностей нарушений функционального состояния клеточных и гуморальных звеньев иммунитета, показателей неспецифической резистентности организма в патогенезе аллергического альвеолита (АА) в зависимости от периодов его развития и коррекция их корвитином.

Исследования проведено на 155 морских свинок (самцах). Впервые установлено, что на 34-е, 44-е, 54-е сутки развития АА постепенно снижается уровень Т-лимфоцитов соответственно на 16,6% (P<0,05), 21,1% (P<0,05), 25,2% (P<0,05), теофилинчувствительных на 24,8% (P<0,05), 35,7% (P<0,05), 43,0% (P<0,05) и теофилинрезистентных субпопуляций Т-лимфоцитов на 10,6% (P<0,05), 18,0% (P<0,05), 22,4% (P<0,05) в крови, комплементарной активности сыворотки крови во второй, третьей, четвертой и пятой групп животных соответственно на 14,4% (P<0,05), 16,9% (P<0,05), 18,4% (P<0,05) и 21,1% (P<0,05) по сравнению с контролем. В тоже время на 34-е, 44-е, 54-е и 64-е сутки повышается содержание иммуноглобулинов А в крови соответственно на 45,4% (P<0,05), 90,9% (P<0,05), 118,1% (P<0,05) и 118,2% (P<0,05), иммуноглобулинов М, G и В-лимфоцитов на 19,3% (P<0,05), 25,8% (P<0,05), 32,2% (P<0,05) и 38,7% (P<0,05) с наибольшей степенью их выражения на 64-е сутки эксперимента, что свидетельствует о стимуляции гуморального звена иммунитета при аллергическом альвеолите. Показано, что экспериментальный АА сопровождается повышением уровня циркулирующих иммунных комплексов в крови больших, средних и малых размеров.

Выявлено, что при аллергическом альвеолите повышается фагоцитарная активность лейкоцитов в периферической крови в зависимости от периодов его развития. На 34-е, 44-е, 54-е сутки экспериментального АА возрастает уровень фагоцитарного индекса (ФИ), фагоцитарного

числа (ФЧ), НСТ-теста. Позже, на 64-е сутки развития аллергического альвеолита наоборот наблюдается снижение ФЧ на 20,0% ( $P < 0,05$ ), ФИ и показателей НСТ-теста в периферической крови. Впервые доказано корригирующее влияние корвитина на показатели клеточного иммунитета (Т-лимфоцитов, субпопуляции теофилинрезистентных и теофилинчувствительных Т-лимфоцитов), которые повышались в крови после применения этого препарата.

Установлено, что назначение корвитина животным с аллергическим альвеолитом вызывает повышение фагоцитарной активности лейкоцитов. В работе впервые показано, что корвитин снижает повышенное содержание иммуноглобулинов А, М, G, В-лимфоцитов, уровень больших, средних и малых размеров циркулирующих иммунных комплексов в крови, что свидетельствует о иммунокорригирующем влиянии этого лекарственного средства на изучаемые показатели при экспериментальном аллергическом альвеолите.

Результаты проведенных исследований расширяют существующие представления о патогенезе экспериментального аллергического альвеолита, а также роль в этих механизмах гуморального и клеточного иммунитета, фагоцитарной активности лейкоцитов и влияние на эти процессы корвитина. Выраженное иммунокорригирующее действие корвитина указывает на целесообразность и перспективность его дальнейшего изучения в клинике внутренних болезней с целью коррекций этих нарушений при аллергическом альвеолите и разработке методичных рекомендаций.

**Ключевые слова:** экспериментальный аллергический альвеолит, иммунная система, корвитин.

## ANNOTATION

**Kolishetska M.A. The role of immune system disturbances and nonspecific organism resistency in experimental allergic alveolitis pathogenesis, and their pharmacological correction. Manuscript**

The dissertation for obtaining the scientific degree of candidate of medical science on speciality 14.03.04 – Patological physiology. The state higher educational establishment "Ternopil state medical university named after I. Gorbachevsky" of MHP of Ukraine. Ternopil, 2010

The dissertational work is devoted to study of peculiarities of functional condition of cell and humoral immunity chains, nonspecific organism resistance indexes in allergic alveolitis pathogenesis, depending on its development periods and their correction by means of Korvitin.

The investigation was carried out on 155 Guiney pigs (males). For the first time it was estimated, that on the 34<sup>th</sup>, 44<sup>th</sup> and 54<sup>th</sup> days of allergic alveolitis development the level of T-lymphocytes and of teophylosensitive and teophyloresisten subpopulations of T-lymphocytes in blood and complement blood

plasma activity is gradually lowered and the level of immunoglobulins of A, M, G. B lymphocytes and circulating immune complexes is increased, with their highest level of expressions on the 64-th day of experiment. For the first time it was shown, that in conditions of allergic alveolitis formation (34<sup>th</sup>, 44<sup>th</sup> and 54<sup>th</sup> days) the phagocytar leucocytes activity activation, and on the contrary, its lowering on the 64<sup>th</sup> day of this immunocomplex pathology was observed. For the first time the correctional action of Korvitein on disturbed indexes of humoral and cell immunity, nonspecific resistance of the organism, appearing in conditions of allergic alveolitis development was proved.

**Key words:** experimental allergic alveolitis, immune system, Korvitein.