

Kolishetska M. A., Vesklyarova U. P., Zastryzhna M. L. Asthma: shift some indicators proteinase-inhibitory system in the lungs of guinea pigs and their correction of thiotriazolol. Journal of Education, Health and Sport. 2017;7(2):328-336. eISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.377037>
<http://ojs.ukw.edu.pl/index.php/johs/article/view/4330>

The journal has had 7 points in Ministry of Science and Higher Education parametric evaluation. Part B item 1223 (26.01.2017).
1223 Journal of Education, Health and Sport eISSN 2391-8306 7

© The Author (s) 2017;

This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz, Poland

Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License

(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.

Received: 02.02.2017. Revised 03.02.2017. Accepted: 05.02.2017.

ASTHMA: SHIFT SOME INDICATORS PROTEINASE-INHIBITORY SYSTEM IN THE LUNGS OF GUINEA PIGS AND THEIR CORRECTION OF THIOTRIAZOLIN

M. A. Kolishetska, U. P. Vesklyarova, M. L. Zastryzhna

Danylo Halytskyi Lviv National Medical University

Andrej Krupynsky Lviv Institute of Nursing and Laboratory Medicine

Abstract

The research results show that under the conditions of this experimental asthma is a violation of the functional state of proteinase-inhibitory system, which is manifested by excessive activation proteyinz potential. Reported increase level of azoalbumin, azokazeyin and azokolahen, especially on the 33rd day of the experiment and depression protease inhibitors. This leads to the development of protease-inhibition imbalance, including breach of cellular homeostasis in general.

Application of thiotriazoline showed its corrective effect on the performance changed proteolysis, a significant increase in inhibitory protect the lungs of guinea pigs in the conditions of experimental asthma.

Key words: asthma, azoalbumin, azokasein, azokolagen, α 1-protease inhibitor, α 2-macroglobulin, thiotriazolol.

БРОНХІАЛЬНА АСТМА: ЗСУВ ОКРЕМИХ ПОКАЗНИКІВ ПРОТЕЇНАЗО-ІНГІБІТОРНОЇ СИСТЕМИ У ЛЕГЕНЯХ МОРСЬКИХ СВИНОК ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ ТІОТРИАЗОЛІНОМ

М. А.Колішецька, У. П.Весклярова, М. Л.Застрижна

**Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького
Львівський інститут медсестринства та лабораторної медицини ім. Андрея
Крупинського**

Реферат

Результати досліджень засвідчують, що за умов розвитку експериментальної бронхіальної астми відбувається порушення функціонального стану протеїназо-інгібіторної системи, яке проявляється надмірною активацією протеїназного потенціалу. Зафіксовано зростання рівня азоальбуміна, азоказеїна та азоколагена, особливо на 33-ю добу експерименту і депресія інгібіторів протеаз. Це призводить до розвитку протеїназо-інгібіторного дисбалансу, зокрема і порушення клітинного гомеостазу, в цілому.

Застосування тіотриазоліну показало його коригуючий вплив на змінені показники протеолізу, суттєве збільшення інгібіторного захисту в легенях морських свинок за умов розвитку експериментальної бронхіальної астми.

Ключові слова: бронхіальна астма, азоальбумін, азоказеїн, азоколаген, $\alpha 1$ -інгібітор протеаз, $\alpha 2$ -макроглобулін, тіотриазолін.

БРОНХИАЛЬНАЯ АСТМА: СМЕЩЕНИЕ ОТДЕЛЬНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРОТЕИНАЗО-ИНГИБИТОРНОЙ СИСТЕМЫ В ЛЕГКИХ МОРСКИХ СВИНОК И ИХ КОРРЕКЦИЯ ТИОТРИАЗОЛИНОМ

М. А. Колишецкая, У. П. Весклярова, М. Л. Застрижна

**Львовский национальный медицинский университет им. Данила Галицкого.
Львовский институт медсестринства и лабораторной медицины им. Андрея
Крупинского**

Реферат

Результаты исследований показывают, что в условиях развития экспериментальной бронхиальной астмы происходит нарушение функционального состояния протеиназо-ингибиторной системы, которое проявляется чрезмерной активацией протеиназного потенциала. Зафиксирован рост уровня азоальбумина, азоказеина и азоколагена, особенно на 33-е сутки эксперимента и депрессия ингибиторов протеаз. Это приводит к развитию протеиназо-ингибиторного дисбаланса, в том числе и нарушения клеточного гомеостаза, в целом.

Применение тиотриазолина показало его корректирующее воздействие на измененные показатели протеолиза, существенное увеличение ингибиторной защиты в легких морских свинок в условиях развития экспериментальной бронхиальной астмы.

Ключевые слова: бронхиальная астма, азоальбумин, азоказеин, азоколаген, α 1-ингибитор протеаз, α 2-макроглобулин, тиотриазолин.

Вступ. На сьогоднішній день бронхіальна астма (БА) входить до групи найбільш значущих хронічних патологічних станів як за розповсюдженістю, так і за наслідками для сучасного суспільства [2]. Рівень діагностичних помилок лікарів загальної практики перевищує 40%, а встановлення правильного діагнозу запізнюється на 5-6 років [1]. Досі дільничні педіатри рідко діагностують БА. Діагноз, як правило, встановлюють алерголог чи пульмонолог і найчастіше тоді, коли захворювання набуває вже середньотяжкого та тяжкого перебігу, що суттєво впливає на прогноз і результат БА [5].

Однією з основних систем організму, що контролює гомеостаз, є протеїназо-інгібіторна система, зміни в якій призводять до виникнення захворювань [6]. Глікопротеїди є важливою групою білків плазми крові, які регулюють активність протеолітичних ферментів, котрі відіграють ключову роль у функціонуванні основних гомеостатичних систем організму. В умовах патології в крові і тканинах може накопичуватись надмірна кількість протеїназ не тільки ендогенного, але й екзогенного походження, які деструктивно діють на білкові структури, сприяють утворенню вазоактивних речовин [4]. α 1-інгібітор протеїназ (α 1-ІП) і α 2 - макроглобулін (α 2-М) є основними інгібіторами трипсиноподібних протеїназ крові і приймають участь в регуляції процесів гемокоагуляції, фібринолізу і кініногенезу. α 2- макроглобулін забезпечує контроль за активністю протеолітичних ферментів шляхом їхнього швидкого зв'язування і виведення з організму, грає важливу роль в імунологічних реакціях, клітинному рості, диференціації, метаболізмі сполучної тканини, модуляції активності різних цитокінів, регуляції синтезу оксиду азоту макрофагами. α 2-М може інгібувати активність всіх відомих протеолітичних ферментів, транспортувати більшу частину цитокінів, регулювати процеси ендоцитозу, гемостазу, кооперації різних частин крові. Він є важливим компонентом макрофагальної аутокринної регуляції, в тому числі і створення клітинного оксиду азоту, з яким пов'язані різні фізіологічні і патологічні процеси [4, 6]. Антипротеїназна активність крові і тканин – важливий показник, який характеризує протікання і прогноз різноманітних патологічних процесів і ефективність терапії. Важлива роль протеїназ і процесів вільнорадикального окиснення в патогенезі бронхолегеневих захворювань служить основою для використання інгібіторів протеїназ і антиоксидантів для лікування бронхолегеневої патології [3, 9].

Попри багаторічні дослідження бронхіальної астми, котрі виконані міжнародною спільнотою науковців, питання підвищення ефективності лікування цього захворювання залишається вельми актуальним [7, 8].

Тому метою нашого дослідження є вивчити зміни показників протеїназо-інгібіторної системи в легенях при розвитку експериментальної бронхіальної астми на фоні застосування тіотриазоліну.

Матеріал і методи дослідження. Всі експерименти на лабораторних тваринах були проведені при дотриманні принципів біоетики у відповідності з положенням Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986), Директиви Ради

Європи 2010/63/EU, Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження», загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених першим національним конгресом України з біоетики (2001).

Експериментальні дослідження проводились на 72 морських свинках (самцях) масою 180 – 220 г, поділених на 6 груп по 12 тварин у кожній. До I групи (контроль) відносили інтактні морські свинки, до II- тварини з експериментальною БА (5-а доба), до III – морські свинки на 19-у добу модельного процесу, до IV - тварини з експериментальною БА (26-а доба), до V - мурчаки на 33-ю добу експерименту (до лікування тіотриазоліном) і до VI – тварини з модельним процесом БА після застосування тіотриазоліну. Для корекції порушень VI групі тварин вводився препарат тіотриазолін з розрахунку 100 мг/кг внутрішньом'язево з 23 доби експерименту впродовж 10 днів. З метою більш детального аналізу досліджуваних нами показників умовно виділяли два періоди розвитку експериментальної бронхіальної астми: ранній і пізній. Ранній період включав групу тварин із БА на 5-у та 19-у доби експерименту. Пізній – морські свинки на 26-у та 33-ю доби БА.

Експериментальна модель БА відтворювалась на морських свинках за методом В.І. Бабича (1979). Попередньо тварин одноразово сенсibiliзували нормальною кінською сироваткою (0,1 мл внутрішньочеревинно). Наступні три дні підряд вводили підшкірно 0,1 мл нормальної кінської сироватки (НКС) з вбитою в автоклаві БЦЖ (на 1 мг БЦЖ 1,0 мл НКС). Наступні 14 днів щоденно тварини протягом 30 хв. в щільно закритій камері за допомогою розпилювача піддавалися інгаляції НКС по 1,0 мл сироватки на кожну морську свинку. Після закінчення цього терміну кожні 7 днів морським свинкам проводили інгаляції НКС. Потім тварин декапітували і визначали стан протеїназо-інгібіторної системи в легенях за загальною протеолітичною активністю – за лізісом азоальбуміну (розпад низькомолекулярних протеїнів), азоказеїну (розпад високомолекулярних протеїнів) і азоколагену (колагеноліз) та інгібіторів протеолізу за вмістом α 1- інгібітора протеїназ, α 2-макроглобуліну за методом Веремеєнко К.Н., Голобородько О.П., 1988 [4]. Статистичне опрацювання одержаних даних здійснювали за методом Стьюдента.

Результати досліджень та їх обговорення. Порівняльний аналіз показників засвідчив: поступове інтенсивне зростання азоальбуміну, азоказеїну та азоколагену в легенях за умов формування бронхіальної астми, особливо виражене на 33-ю добу експерименту. Так, достовірне збільшення азоальбуміна в легенях виявили у тварин на всі досліджувані доби: на 8% ($p \leq 0,05$) на 19-у добу і на 13,4% ($p \leq 0,05$) на 26-у доби БА

в порівнянні з тваринами на 5-у добу модельного процесу. Подальше збільшення досліджуваного показника зафіксовано в V групі – на 41% ($p \leq 0,05$) напроти мурчаків II групи, що свідчить про стимуляцію процесів протеолізу, особливо в пізній період експериментальної моделі хвороби.

Встановлено, що вміст азоказеїну в легенях аналогічно поступово підвищувався на 4,2% на 19-у добу БА і надалі зростав відповідно на 13,4% ($p \leq 0,05$) і 35,3% ($p \leq 0,05$) на 26-у і 33-ю доби експерименту порівняно з морськими свинками II групи, що вказує на прискорення розпаду високомолекулярних протеїнів.

Визначення рівня азоколагену в легенях також виявило його збільшення в залежності від тривалості патологічного процесу: на 19-у, 26-у і 33-ю доби цей показник підвищується відповідно на 5,5% ($p \leq 0,05$), 13,9% ($p \leq 0,05$) і 19,4% ($p \leq 0,05$) відносно групи мурчаків на 5-у добу експерименту.

Введення тіотриазоліну призводило до вагомого зниження вмісту азоальбуміну, азоказеїну та азоколагену в легенях відповідно на 36,1% ($p \leq 0,05$), 29,2% ($p \leq 0,05$) і на 27,9% ($p \leq 0,05$) порівняно з групою тварин, які не піддавалися впливу цього препарату (рис.1).

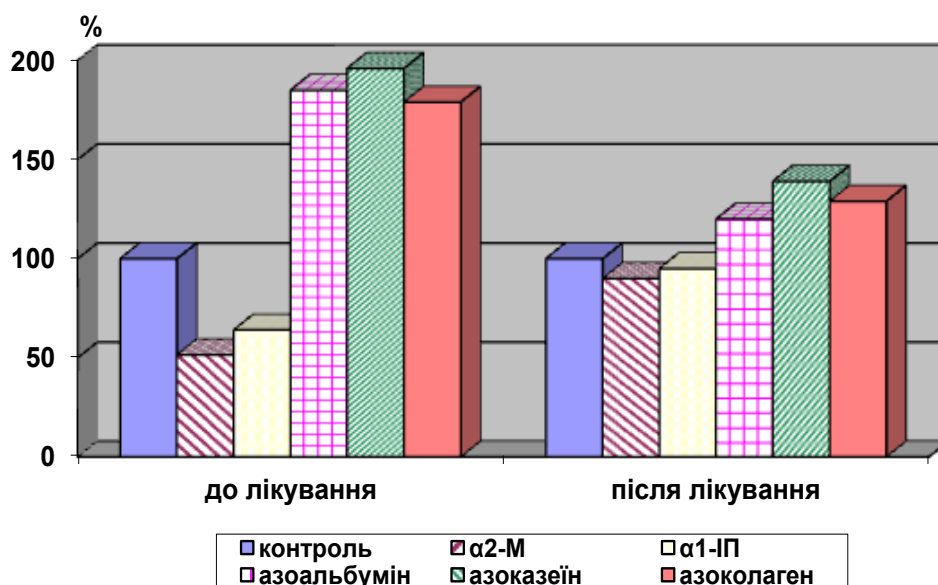


Рис.1. Вплив тіотриазоліну на рівень протеїназо-інгібіторної системи у легенях морських свинок у динаміці формування БА.

На тлі інтенсифікації протеолізу в легенях мурчаків при експериментальній БА виявлено значні зміни в системі інгібіторів протеаз. Зокрема, у всіх групах достовірно

змінені активність $\alpha 2$ -макроглобуліну і $\alpha 1$ -ІІ. Визначення активності $\alpha 2$ -макроглобуліну виявило поступове її зниження в залежності від тривалості патологічного процесу: на 19-у, 26-у і 33-ю доби цей показник знижується відповідно на 26% ($p \leq 0,05$), 46,6% ($p \leq 0,05$) і 60,3% ($p \leq 0,05$) відносно групи мурчаків на 5-у добу експерименту. Дослідження наступного показника $\alpha 1$ -ІІ показало, що зміни в його динаміці мають аналогічний напрямок. Достовірною є його регресія в усі досліджувані доби в порівнянні з ІІ групою тварин: на 11,2% ($p \leq 0,05$), 36,9% ($p \leq 0,05$) і 44,3% ($p \leq 0,05$) відповідно на 19-у, 26-у і 33-ю доби експериментальної БА, що характеризує депресію цієї ланки захисту.

Результати проведеного лікування показали ефективність та підвищення активності досліджуваних маркерів. Так, після застосування тіотриазоліну рівень $\alpha 2$ -макроглобуліну в легенях істотно збільшився на 76,9% ($p \leq 0,05$) і $\alpha 1$ -ІІ на 48,2% ($p \leq 0,05$) напроти морських свинок, яким лікування на 33-ю добу не проводили (рис. 1).

Висновки. Оцінюючи результати досліджень, можна зробити висновок про те, що за умов розвитку цієї експериментальної моделі хвороби відбувається порушення функціонального стану протеїназо-інгібіторної системи, яке проявляється надмірною активацією протеїназного потенціалу (зростає рівень азоальбуміна, азоказеїна та азоколагена) і депресією інгібіторів протеаз. Це призводить до розвитку протеїназо-інгібіторного дисбалансу, зокрема і порушення клітинного гомеостазу, в цілому. Застосування тіотриазоліну показало його коригуючий вплив на змінені показники протеолізу, суттєве збільшення інгібіторного захисту в легенях морських свинок за умов розвитку експериментальної БА. З огляду на це, отримані дані свідчать про можливу доцільність призначення тіотриазоліну в комплексній терапії у разі проведення подальших як експериментальних, так і клінічних досліджень.

Список літератури

1. Аліфанова С.В. Фактори ризику розвитку бронхіальної астми у дітей. / С.В. Аліфанова //Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики – 2013. - №3(13). – С.4 – 7.
2. Бронхіальна астма. / М.С.Регада, М.М. Регада, Л.О. Фурдичко, М.А. Колішецька. Вид. п'яте, доп. та переробл. – Львів, 2012. – 147с.
3. Вплив тіотриазоліну на стан про- та антиоксидантного балансу у м'яких тканинах пародонта за умов хронічного стресу/ Г.В. Опанасенко, О.О. Гончар, С.Б.

Французова [та ін.] // Таврический медико-биологический вестник. – 2012. – Т. 15, № 3, ч.1 (59). – С. 246-249.

4. Веремеенко К.Н. Протеолиз в норме и при патологии / К.Н.Веремеенко, О.П. Голобородько, А.И.Кизим // К.: Здоров'я, 1988. – 200с.

5. Костроміна В.П. Алгоритм своєчасної діагностики бронхіальної астми у дітей / В.П.Костроміна. О.О.Речкіна, В.В.Куц і ін.//Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики.- №3(13), 2013.-С. 38- 42.

6. Щербак В.В. Влияние применения ингибиторов протеиназы антиоксидантов на формирование воспаления при экспериментальной пневмонии / В.В.Щербак, А.В.Кубышкин // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2011. – Т.6. - № 3. – С.57-63.

7. Global strategy for asthma management and prevention. National institutes of health. National Heart, Lung and Blood Institute. Revised 2014. Available at: <http://www.ginasthma.org>

8. International consensus on (ICON) pediatric asthma / Papadopoulos N.G., Arakawa H., Carlsen K.H. et al. // Allergy. – 2012. – Vol.67, №8. – P. 976-997.

9. Mechanisms of peripheral tolerance to allergens / O.U.Soyer, M.Akdis, J.Ring [at al.] //Allergy. – 2013. - №68. – P.161-170.

References

1. Alifanova, S. V. (2013). Risk Factors Of Bronchial Asthma in Children. Actual questions in pharmaceutical and medical science, 3 (13), 4–7. (in Ukrainian)

2. Regeda, M. S., Furdychko, L. O., Kolishetska, M. A. (2012). Bronchial Asthma. Lviv, 147. (in Ukrainian)

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

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

5. Kostromina V.P., Rechkina V.P., Kuts V.V .et. al (2013). Algorithm timely diagnosis of asthma in children. Recent pharmaceutical and medical science and practice.- №3 (13), P. 38- 42. (in Ukrainian)

6. Shcherbak V.V., Kubyshkyn A.V. (2011). Effect of application inhibitorov

proteynazy antioxidant inflammation in formation at experimental pneumonia. General pathology and pathological physiology, V.6. - № 3. - P.57-63. (in Ukrainian)

7. Global strategy for asthma management and prevention. National institutes of health. National Heart, Lung and Blood Institute. Revised 2014. Available at: <http://www.ginasthma.org>

8. Papadopoulos N.G., Arakawa H., Carlsen K.H. (2012). International consensus on (ICON) pediatric asthma. Allergy, Vol.67, №8. – P. 976-997.

9. Soyer O.U., Akdis M., Ring J. (2013). Mechanisms of peripheral tolerance to allergens. Allergy, № 68. – P.161-170.