

Таким чином, проведені біохімічні дослідження показників АОС і ПОЛ у різних груп тварин (інтактних, ЕП у динаміці її розвитку до та після лікування препаратом корвітином) довели, що на всіх етапах формування пневмонії відбувалося поступове надмірне утворення продуктів ПОЛ і підвищення показників антирадикального захисту (1-ша доба) в трахеї з її поступовим (на 3-тю, 5-ту, 7-му добу) зниженням АОС, що свідчить про перевагу механізмів ушкодження над механізмами захисту. Показано їхню участь і важливу роль у патогенезі експериментальної пневмонії. Доведено коригувальну дію корвітину на порушені метаболічні процеси за умов формування запального процесу в легенях.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Регада М. С.* Пневмонія : монографія / М. С. Регада. – 3-тє вид. – Львів : Сполом, 2005. – 138 с.
2. *Регада М. С.* Запальні хвороби легень та бронхів : монографія / М. С. Регада. – Львів, 2008. – С. 206.
3. *Экспериментальные модели острых пневмоний, вызванных условно-патологическими бактериями и их ассоциацией : метод. указания / сост. В. И. Шляпников, Т. Л. Солодова [и др.]. – Саратов, 1988. – 30 с.*
4. *Гаврилов В. Б.* Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В. Б. Гаврилов, М. И. Мишкорудная // *Лабораторная диагностика ишемической болезни сердца.* – К. : Здоров'я, 1989. – С. 170–171.
5. *Коробейникова Э. Н.* Модификация определения продуктов ПОЛ в реакции с тиобарбитуровой кислотой / Э. Н. Коробейникова // *Лабораторное дело.* – 1989. – № 7. – С. 8–10.

6. *Fried R.* Enzymatic and non-enzymatic assay of superoxide ifilli / R. Fried // *Biochemie.* – 1975. – Vol. 57, N 5. – P. 657–660.

7. *Holmes R.* Epigenetic interconversions of the multiple forms of mouse liver catalase / R. Holmes, C. Masters // *FEBS Lett.* – 1970. – Vol. 11, N 1. – P. 45–48.

8. *Определение активности пероксидазы в крови // Методы исследования в профпатологии / под ред. О. Г. Архиповой.* – М. : Медицина, 1988. – С. 153.

9. *Колб В. Г.* Определение активности церулоплазмينا в крови / В. Г. Колб, В. С. Камышников // *Справочник по клинической химии.* – Минск : Беларусь, 1982. – С. 290–291.

10. *Моин В. М.* Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах / В. М. Моин // *Лабораторное дело.* – 1986. – № 12. – С. 724–727.

УДК 616.24-002-092:612.015

В. Й. Кресюн, М. С. Регада, М. М. Регада

ВПЛИВ КОРВИТИНУ НА ПОКАЗНИКИ ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЇ ТА АКТИВНОСТІ ФЕРМЕНТІВ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В ТРАХЕЇ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ПНЕВМОНІЇ

У роботі встановлено позитивний коригувальний вплив корвітину на вміст у трахеї морських свинок дієнових кон'югатів, малонового діальдегіду, супероксиддисмутази, каталази, пероксидази та церулоплазмину за умов розвитку експериментальної пневмонії.

Ключові слова: корвітин, експериментальна пневмонія, перекисне окиснення ліпідів, антиоксидантна система.

UDC 616.24-002-092:612.015

V. Y. Kresyun, M. S. Regeda, M. M. Regeda

CORVITIN INFLUENCE ON INDICES OF LIPOPEROXIDATION AND ANTIOXIDANT PROTECTION ENZYMES ACTIVITY IN TRACHEAL TISSUE UNDER EXPERIMENTAL PNEUMONIA

In the present work it was established that corvitin renders a positive corrective influence on the dien conjugates and malonic dialdehyde, superoxide dismutase, catalase, peroxidase and ceruloplasmin activity under the modelled experimental pneumonia in trachea tissue of guinea pigs.

Key words: experimental pneumonia, prooxidant and antioxidant systems.

УДК 616-057:656-083.98-72

В. А. Полясный, канд. мед. наук, доц.

КИНДЛИНГ-ПРОВОЦИРОВАННЫЕ СТРЕССОРНЫЕ НАРУШЕНИЯ СО СТОРОНЫ НАДПОЧЕЧНИКОВ, ТИМУСА И СЕЛЕЗЕНКИ В УСЛОВИЯХ ПРИМЕНЕНИЯ КЕТОГЕННОЙ ДИЕТЫ

Одесский национальный медицинский университет

Формирование хронической эпилептизации мозга методом киндлинга, основанное на повторных воздействиях первоначально субконвульсивных эпилептогенных факторов, сопряжено с развитием стрессорных нарушений в организме животных [1]. Подобные нарушения

проявляются в развитии каталитических эффектов, снижении иммунологической реактивности, а также увеличении возбудимости структур мозга [1; 6]. Один из методов их коррекции — применение кетогенной диеты (КД), обеспечивающей противосудорожный эффект [5]. Меха-

низмы, ответственные за формирование противосудорожного действия КД, включают активирование эндогенной опитной системы [2], усиление активности эндогенных лигандов бензодиазепиновых рецепторов [3], а также ГАМКергического торможения, снижение актив-

ности прооксидантных механизмов, а также системы возбуждающих аминокислот, усиление пуринергической медиации и синтеза оксида азота [5]. До последнего времени эффекты КД не исследовались в отношении стрессобусловленных нарушений в условиях воспроизведения фармакологического киндлинга.

Поэтому целью настоящего исследования стало изучение проявлений, характерных для стресса, наблюдаемых у животных в процессе формирования киндлингового эпилептического синдрома в условиях применения КД.

Материалы и методы исследования

Исследования проведены в условиях хронического эксперимента на крысах-самцах линии Вистар массой 180–250 г, которые содержались в стандартных условиях вивария ОНМедУ. Исследования проводили в соответствии с требованиями GLP и комиссии по биоэтике ОНМедУ (протокол № 84 от 10 октября 2008 г.). Киндлинг воспроизводили путем ежедневных введений коразола в подпороговой дозе (25,0 мг/кг, внутривентриально) [1]. Всего осуществляли 21 инъекцию эпилептогена. В наблюдении исследовали тех животных, у которых последние три инъекции эпилептогена вызывали генерализованные клонико-тонические судорожные приступы.

В отдельных группах наблюдения проводили введение ко-

разола на фоне применения КД. Она включала 80 % липидов, а также 3,3 % углеводов и 16,7 % белков [3; 5]. На 15-е и 29-е сутки с момента начала КД и через 24 ч с момента последнего 21-го применения коразола исследовали морфометрические показатели и измеряли уровень гормонов в крови. Группой контроля служили киндлинговые животные, которые в течение аналогичного срока находились в обычных условиях содержания и кормления.

Определение уровня гормонов в сыворотке крови проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием набора реактивов ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск, РФ).

Эвтаназию животных осуществляли путем внутривентриального применения нембутала (100,0 мг/кг). После тщательного отсепаровывания от окружающих тканей проводили взвешивание тимуса, селезенки, а также левого и правого надпочечников. Надпочечники, использовавшиеся для приготовления срезов, окрашенных гематоксилин-эозином, фиксировали в 10%-м нейтральном формалине. Измерения толщины коркового и мозгового слоев проводили с помощью окуляр-микрометра.

Результаты исследований обрабатывали статистически с применением общепринятых в медико-биологических исследованиях критериев ANOVA + Newman–Keuls.

Результаты исследования и их обсуждение

Исследование морфометрических изменений иммунокомпетентных органов показало, что под влиянием стресса отмечалось увеличение массы левого и правого надпочечников — соответственно на 41,3 и 32,8 % в сравнении с контролем ($P < 0,05$). При этом также наблюдалось снижение массы селезенки и тимуса — соответственно на 20,9 и 26,9 % ($P < 0,05$) (табл. 1).

В группе животных, которых удерживали на КД в течение двух недель, масса левого и правого надпочечников была больше таковой в группе интактных животных — соответственно на 31,4 и 24,0 % ($P < 0,05$). Масса селезенки снижалась на 11,0 % и при этом была на 12,5 % меньше, чем у киндлинговых крыс ($P > 0,05$). Масса тимуса в условиях двухнедельного применения КД была меньше таковой в группе интактных животных на 21,4 % и больше, чем у крыс с одним только киндлингом, на 7,6 % ($P > 0,05$) (см. табл. 1). В условиях четырехнедельного удерживания животных на КД масса надпочечников несущественно (соответственно на 1,6 и 2,4 % возрастала в сравнении с таковой в группе интактных животных ($P > 0,05$). При этом масса селезенки на 4,4 % превышала таковую в контроле, а масса тимуса была на 6,5 % меньше ($P > 0,05$). Все указанные показатели были достоверно меньше таковых у крыс с развившимся киндлин-

Таблица 1

Динамика изменений массы надпочечников и иммунокомпетентных органов киндлинговых крыс в условиях применения кетогенной диеты, $M \pm m$

Группа животных	Число крыс	Надпочечник, мг		Селезенка, мг	Тимус, мг
		Левый	Правый		
1. Интактные крысы + физ. р-р	10	12,1±0,4	12,5±0,4	345,3±11,2	144,7±7,5
2. Киндлинг	14	17,1±0,6 [#]	16,6±0,6 [#]	273,2±10,1 [#]	105,8±6,8 [#]
3. Киндлинг + КД (2 нед.)	12	15,9±0,7 [#]	15,5±0,5 [#]	307,3±8,7	113,8±5,5 [#]
4. Киндлинг + КД (4 нед.)	11	12,3±0,5 [*]	12,8±0,5 [*]	360,5±11,3 [*]	135,3±9,4 [*]

Примечание. В табл. 1, 2: [#] — $P < 0,05$ в сравнении с группой 1; ^{*} — $P < 0,05$ в сравнении с группой 2.

Динамика ширины слоев надпочечников киндлинговых крыс в условиях применения кетогенной диеты, $M \pm m$

Группа животных	Число крыс	Корковая зона, мкм	Мозговое вещество, мкм
1. Интактные крысы + физ. р-р	10	702,9±25,1	647,2±23,4
2. Киндлинг	14	841,5±31,2 [#]	817,2±29,4 [#]
3. Киндлинг + КД (2 нед.)	12	805,3±25,1 [#]	788,3±31,2 [#]
4. Киндлинг + КД (4 нед.)	11	714,3±22,6 [*]	675,3±25,4 [*]

гом при отсутствии применения КД ($P < 0,05$).

В условиях сформированного киндлингового синдрома наблюдалось значительное увеличение ширины коркового слоя надпочечника (левый надпочечник) на 19,7 %, а также ширины мозгового слоя — на 26,3 % ($P < 0,05$) (табл. 2). На фоне двухнедельного удерживания животных на КД толщина коркового слоя была больше таковой в группе интактных крыс на 14,6 % ($P < 0,05$), при этом данный показатель превышал таковой в группе киндлинговых крыс на 4,3 % ($P > 0,05$). Толщина мозгового слоя в условиях двухнедельного применения КД превышала таковую в группах интактных животных соответственно на 21,8 % ($P < 0,05$) и была меньше, чем у крыс с одним киндлингом, на 3,5 % ($P > 0,05$) (см. табл. 2). В условиях двухнедельного применения КД толщина коркового слоя была больше таковой в группе интактных крыс на 1,6 %, а мозгового — на 4,3 % ($P > 0,05$). При этом оба показателя были достоверно меньше, чем у крыс с одним киндлингом (соответственно на 15,1 и 17,4 %, $P < 0,05$).

У животных с развившимся киндлингом содержание кортикотропина и кортикостерона превышало соответствующие показатели в группе интактных крыс ((95,6±8,9) пг/мл и (277,5±±33,5) нмоль/л) соответственно на 47,0 % и в 2,4 раза ($P < 0,05$, рис. 1). Уровень гастрина был выше такового в группе интактных крыс ((54,7±6,2) пг/мл) в 2,2 раза ($P < 0,05$).

Формирование киндлинга у животных, которых удерживали на КД на протяжении двух недель, практически нормализовало содержание кортикотропина, уровень которого превышал соответствующий показатель у животных контрольной группы на 12,0 % ($P > 0,05$, см. рис. 1). Уровень кортикостерона, однако, превышал его содержание в группе контроля на 44,0 % ($P < 0,05$). Также выше

контроля было содержание гастрина (на 35,0 %, $P < 0,05$). В условиях формирования киндлинга у животных, которых удерживали на КД в течение четырех недель, содержание исследованных гормонов не отличалось от соответствующих данных у животных контрольной группы ($P > 0,05$, см. рис. 1).

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что в условиях формирования хронического эпилептического синдрома методом киндлинга у животных реализуются характерные стрессорные нарушения, проявляющиеся в типичных изменениях со стороны надпочечников, увеличении продукции глюкокортикостероидных гормонов, уменьшении массы иммунокомпетентных органов — тимуса и селезенки.

В то же время удерживание животных на КД в течение формирования киндлинга сопровождается стресс-протекторным действием диеты, более выраженным при четырехнедельном периоде ее применения. В основе отмечаемых положительных эффектов КД могут находиться воздействия, связанные со снижением уровня провоспалительных цитокинов — фактора некроза опухолей альфа и интерлейкина-1бета, отмечаемым в условиях применения КД [5]. Как известно, данные цитокины способны неспецифически активировать гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую ось, что инициирует и поддерживает стрессорную реакцию [8]. По-видимому, подобное блокирующее действие лежит в основе показанного в

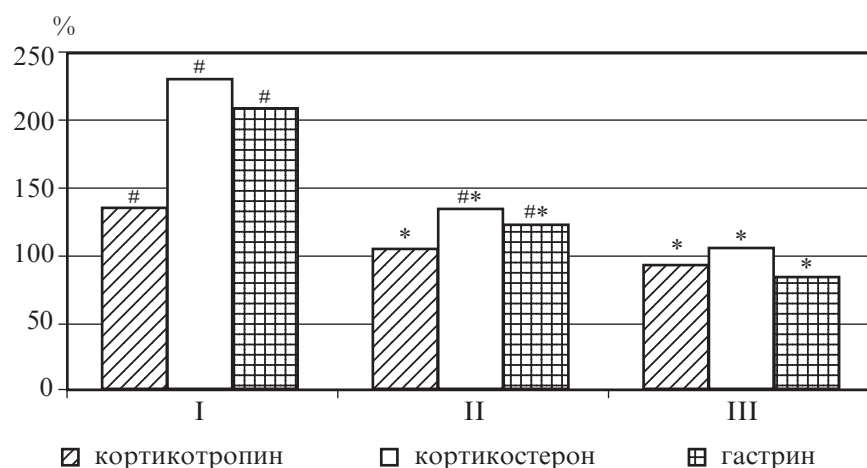


Рис. 1. Динамика уровня гормонов в крови у крыс со сформированным киндлинг-синдромом и применением КД. По оси абсцисс: I — стресс-провоцированные нарушения уровня гормонов крови; II, III — применение КД на протяжении двух и четырех недель соответственно. По оси ординат — исследуемые показатели (%) по отношению к группе контроля (интактные крысы); [#] — $P < 0,05$ в сравнении с группой интактных крыс; ^{*} — $P < 0,05$ в сравнении с группой стрессированных животных (ANOVA + Newman-Keuls тест)

исследовании уменьшения уровня кортикотропина и кортикостерона в крови животных.

Механизм снижения уровня гастринина может в большей степени зависеть от реализации местных механизмов патогенеза стрессорных нарушений, реализующихся на уровне регуляции секреторной активности желез желудка. Важно подчеркнуть, что КД способствует снижению активности дофаминергических механизмов, высокая активность которых приводит к увеличению продукции гастринина [7; 9], а также обеспечивает механизмы консолидации иммунного ответа [4]. Можно полагать, что предупреждение гиперактивации катехоламинергических механизмов, вызываемое КД, гарантирует большую стрессорную устойчивость иммунокомпетентных органов — тимуса и селезенки — к стрессорным воздействиям.

Полученные данные эффективности КД в отношении проявлений стрессорных наруше-

ний у животных, наряду с ранее установленной эффективностью в отношении экспериментального судорожного синдрома, позволяют рассматривать КД в качестве средства коррекции эпилептиформных проявлений, оказывающего комплексный терапевтический эффект.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Моделирование* и механизмы подавления экспериментального эпилептического синдрома / Л. С. Годлевский, Е. В. Коболев, В. Ф. Мустяца, Г. А. Дроздова. — Одесса : КП ОГТ, 2010. — 350 с.
2. *Полясный В. А.* Опиатергические механизмы изменений спонтанной и вызванной двигательной активности киндлинговых крыс в условиях применения кетогенной диеты / В. А. Полясный // *Интегративная антропология*. — 2012. — № 1 (12). — С. 45–49.
3. *Полясный В. А.* Усиление противозепилептического действия диазепама под влиянием кетогенной диеты на очаговой модели эпилептической активности / В. А. Полясный // *Достижения биологии та медицини*. — 2011. — № 2 (18). — С. 21–24.
4. *Хендерсон Дж. М.* Патолофизиология органов пищеварения / Дж. М.

Хендерсон. — Москва ; СПб. : Бином-Невский Диалект, 1997. — 272 с.

5. *Adenosine*, ketogenic diet and epilepsy: the emerging therapeutic relationship between metabolism and brain activity / S. A. Masino, M. Kawam, C. D. Wasser [et al.], // *Curr. Neuropharmacol.* — 2009. — Vol. 7, N 3. — P. 257–268.
6. *Amygdaloid kindled seizures* can induce functional and pathological changes in thymus of rat: Role of the sympathetic nervous system / R. Bhatt, S. Bhatt, M. Hameed [et al.] // *Neurobiology of Disease*. — 2006. — Vol. 21, N 1. — P. 127–131.
7. *Desai J. K.* Characterization of dopamine receptor subtypes involved in experimentally induced gastric and duodenal ulcers in rats / J. K. Desai, R. K. Goyal, N. S. Parmar // *J. Pharm. Pharmacol.* — 1999. — Vol. 51, N 2. — P. 187–192.
8. *Effects of pentoxifylline* on TNF- α production by peripheral blood mononuclear cells in patients with non-alcoholic steatohepatitis / D. G. Duman, F. Ozdemir, E. Birben [et al.] // *Digestive Diseases and Sciences*. — 2007. — Vol. 52, N 10. — P. 2520–2524.
9. *High gastrin cell activity* and low ghrelin cell activity in high-anxiety Wistar Kyoto rats / E. Kristensson, M. Sundqvist, R. Håkanson, E. Lindström // *J. Endocrinol.* — 2007. — Vol. 193. — P. 245–250.

УДК 616-057:656-083.98-72

В. А. Полясный

КИНДЛИНГ-ПРОВОЦИРОВАННЫЕ СТРЕССОРНЫЕ НАРУШЕНИЯ СО СТОРОНЫ НАДПОЧЕЧНИКОВ, ТИМУСА И СЕЛЕЗЕНКИ В УСЛОВИЯХ ПРИМЕНЕНИЯ КЕТОГЕННОЙ ДИЕТЫ

В условиях острого опыта на крысах, у которых моделировали киндлинг путем повторных введений коразола (25,0 мг/кг, внутривентриально на протяжении 21 дня), отмечено снижение массы селезенки и тимуса при одновременном возрастании массы надпочечников, утолщении коркового и мозгового слоев. Кроме того, отмечается увеличение уровня кортикотропина, кортикостерона и гастринина в крови животных. Показано, что под влиянием кетогенной диеты (80 % липидов, 3,35 % углеводов и 16,7 % протеинов) предупреждается развитие киндлинг-провоцированных нарушений и эти эффекты более выражены при четырехнедельном удерживании животных на кетогенной диете.

Ключевые слова: киндлинг, кетогенная диета, надпочечники, селезенка, тимус, кортикотропин, кортикостерон, гастрин.

UDC 616-057:656-083.98-72

V. A. Polyasny

KINDLING-INDUCED STRESS DISTURBANCES OF SUPRARENAL GLANDS, THYMUS AND SPLEEN UNDER CONDITIONS OF KETOGENIC DIET USAGE

In experiments on rats corazol kindling (25.0 mg/kg, i.p. daily injection during 21 days), the decreasing of the weight of spleen, thymus along with simultaneous increasing of the weight of suprarenal glands and enlargement of the cortical and medullary layers have been seen. Besides, heightened level of corticotropin, corticosteron and gastrin have been registered in blood. It was established that ketogenic diet (80% of lipids, 3.35 carbohydrates and 16.7% of proteins) prevented kindling-induced deteriorations and this effect was more pronounced in case of four weeks of ketogenic diet treatment.

Key words: kindling, ketogenic diet, suprarenal glands, spleen, thymus, corticotrophin, corticosterone, gastrin.