

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису

КИЇВСЬКА ЮЛІЯ ОЛЕКСАНДРІВНА

УДК: 616.211-002:678.048]-092.9

ДИСЕРТАЦІЯ

**ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНІ ТА ІМУННІ МЕХАНІЗМИ ПРИ
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ РИНИТАХ РІЗНОГО ГЕНЕЗУ ТА
ПАТОГЕНЕТИЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ МІСЦЕВОГО ЗАСТОСУВАННЯ
ПРИРОДНИХ АНТИОКСИДАНТІВ**

14.03.04 – патологічна фізіологія

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук

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

_____ Ю.А. Київська

Науковий керівник - Крижна Світлана Іванівна, доктор медичних наук, професор

Харків-2019

АНОТАЦІЯ

Київська Ю.А. Прооксидантно-антиоксидантні та імунні механізми при експериментальних ринітах різного генезу та патогенетичне обґрунтування місцевого застосування природних антиоксидантів. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія. – Сумський державний університет, Суми, 2019.

Поширеність гострих респіраторних захворювань (ГРЗ), що посідають перше місце серед причин тимчасової втрати працездатності, згідно з даними ВООЗ, тенденція до зростання чисельності захворюваності населення на території України, розвиток серйозних ускладнень на їх тлі, їх погана контрольованість та доведена недостатність на ринку ефективних місцевих лікарських засобів для лікування ринітів, створили підґрунтя для подальшого дослідження патофізіологічних аспектів риніту та його фармакотерапевтичної корекції. Поширення ГРЗ в значній мірі визначається соціально-економічною обстановкою в державі та іншими факторами. Економічні втрати в сезон грипу 2014-2015 року склали понад 280 млн. грн. без урахування особистих витрат хворих [22, 32]. Щоб змінити ситуацію на краще, потрібна системна робота на загальнодержавному та науковому рівні, встановлення патогенетичного підґрунтя для розробки новітніх фармакологічних засобів задля запобігання генералізації запального процесу [44, 80].

Сьогодні відомо, що підґрунтям розвитку риніту є пошкодження тканини і розвиток запалення. Запалення – єдиний запрограмований і стереотипний механізм відновлення тканин після травми. Запальні клітини вивільняють ряд реактивних видів кисню / азоту на місці запалення, що призводить до перебільшення окисного стресу. З іншого боку, ряд реактивних видів може ініціювати внутрішньоклітинний каскад сигналізації, що посилює експресію прозапального гену [30, 61]. Таким чином, запалення та окислювальний стрес є

тісно пов'язаними патофізіологічними явищами. Нездатність відбирати агенти, які специфічно спрямовані як на запалення, так і на окисний стрес або невикористання одночасно як антиоксидантних, так і протизапальних агентів або використання неселективних засобів, які блокують деякі окислювальні та / або запальні шляхи, але перебільшують інші, можуть бути відповідальними за невдачі антиоксидантних клінічних випробувань [33, 188]. Ця ідея спонукала нас переглянути основні аспекти окислювального стресу та запалення та їх взаємозв'язок і залежність. Встановлено за даними літератури, що антиоксиданти на основі натуральних речовин у поєднанні з протизапальною активністю є одним із найцінніших терапевтичних засобів для зниження хвороб, спричинених оксидативним стресом [49, 168]. Доведено недостатність на ринку вітчизняних місцевих лікарських засобів з комплексною дією для лікування ринітів [42, 51]. Перспективними компонентами для розробки такого засобу є ефірні олії з комплексом фармакологічної активності, насамперед, протизапальною та антиоксидантною [164, 174].

Оскільки декілька окислювачів та антиоксидантів беруть участь у патогенезі запального процесу при експериментальних ринітах, комплексне дослідження параметрів окислювального стресу та антиоксидантного захисту необхідне для визначення ролі окисно-антиоксидантного дисбалансу при хімічному та бактеріальному ринітах. Тому логічно було дослідити певні патофізіологічні механізми їх перебігу та обґрунтувати застосування у якості коректорів лікарські засоби з антиоксидантною дією природного походження. Враховуючи цілу низку таких особливостей, було обрано у якості лікарських засобів з антиоксидантною активністю гель «Імбирол» та мазь «Піносол». Гель «Імбирол» було розроблено у НФаУ під керівництвом професора Баранової І.І. Він містить комплекс ефірних олій (імбиру, шавлії мускатної, майорану та чайного дерева) з антиоксидантними властивостями для лікування ринітів [52-56]. Загальновідомо, що особливості перебігу запального процесу обумовлюють розвиток окисного стресу тканини. Спочатку ми послідовно продемонстрували такі механізми взаємозв'язку запалення та окисного стресу. Досліди проведені на

208 безпородних щурах-самцях масою тіла 180-220 г. Піддослідні тварини знаходилися у віварії центральної науково-дослідної лабораторії НФаУ м. Харків (зав. ЦНДЛ – канд. фарм. наук, ст.н.с. О. Ю. Кошева) на стандартному харчовому раціоні з вільним доступом до води, по 6 щурів у стандартних металевих клітках без впливу штучних джерел освітлення. Усі втручання та евтаназію тварин здійснювали з дотриманням принципів «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментальних і інших наукових цілей» (Страсбург, 1986 р., із змінами, внесеними в 1998 р.) та ухвали П'ятого Національного конгресу з біоетики (Київ, 2013) [15, 76]. Комісією з біоетики НФаУ порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено (протокол № 3 від 15.03.2017 р.). Виводили з експерименту шляхом декапітації під легким інгаляційним наркозом (ексикатор). Дослідження проводили у ЦНДЛ НФаУ, яка сертифікована ДФЦ МОЗ України (посвідчення № 008/11 від 18.10.2011 р.).

Модель хімічного риніту викликали шляхом введення вологого тампона, просякненого 40 % розчином їдкого натрію, у кожную ніздрю носа тривалістю 1-2 сек. Експериментальну модель бактеріального риніту відтворювали шляхом інтраназального одноразового введення добової культури музейного штаму *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (у кожний носовий прохід) у кількості 0,2 mm³ [5, 15]. Щурів розподілили на 4 групи: перша група – інтактний контроль, друга – хімічний риніт, в третю та четверту групи входили тварини, яким на фоні розвитку хімічного/бактеріального риніту інтраназально вводили препарати гель «Імбирол» та мазь «Піносол» відповідно. Термін спостереження становив 14 днів. Параметри ПОЛ/АОЗ, імунологічні показники, клінічні ознаки, вивчали в інтраназальних змивах та сироватці крові, які досліджували на 3-й та 14-й день експерименту. Патоморфологічне дослідження слизової оболонки носа проводили на 3-ю та 14-у добу експерименту [37, 50, 72].

Установлено, що в патогенезі експериментальних ринітів суттєве значення має порушення в системі ПОЛ/АОЗ, що підтверджено показниками коефіцієнту окисного стресу: при моделюванні хімічного риніту спостерігали його

підвищення в інтраназальних змивах до 9,52 на 3-ю добу та до 6,7 на 14-у добу; у сироватці крові – до 7,7 на 3-ю добу та до 3,72 на 14-у добу; при бактеріальному риніті – до 14,14 на 3-ю добу та до 8,52 на 14 добу; у сироватці крові – до 15,48 на 3-ю добу та до 9,64 на 14-у добу. Динаміка змін коефіцієнту окисного стресу демонструє декомпенсований стан проокисно-антиоксидантної системи та недостатність власних систем, щоб компенсувати зміни, до кінця експерименту на обох експериментальних моделях ринітів. Ступінь порушення системи ПОЛ та АОЗ був більш виражений при бактеріальному експериментальному риніті, за показниками сироватки крові (на системному рівні). Установлено потужний позитивний вплив природних антиоксидантів на порушений прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз при хімічному та бактеріальному ринітах. Відновлення параметрів ПОЛ/АОЗ на 14-у добу експерименту характеризувалося зниженням коефіцієнту оксидативного стресу: на тлі хімічної травми в інтраназальних змивах при застосуванні гелю «Імбирол» до 1,08 та при застосуванні мазі «Піносол» до 1,41; у сироватці крові – відповідно до 1,29 та 2,79; на тлі бактеріального риніту в інтраназальних змивах до 0,66 та 0,86; у сироватці крові – до 1,055 та до 1,94. Місцеве застосування природних антиоксидантів приводить до відновлення декомпенсованого прооксидантно-антиоксидантного балансу слизової оболонки носа в умовах експериментального риніту різного генезу.

Також вивчали імунний статус у щурів на тлі запального процесу слизової оболонки носа різної природи. Дослідження стану клітинного та гуморального імунітету проведені на модельній патології хімічного та бактеріального ринітів та за умов застосування місцевих антиоксидантів – гелю «Імбирол» та мазі «Піносол».

Установлено, що у патогенезі обох експериментальних ринітів важлива роль належить порушенням з боку клітинної та гуморальної ланок неспецифічної резистентності як на місцевому, так і системному рівнях. Ступінь дисбалансу імунної системи був вищий при бактеріальному риніті, що характеризувався більш вираженою метаболічною активністю нейтрофілів наприкінці

експерименту – у 1,2 раза, більш значним пригніченням інших показників неспецифічної резистентності: рівня лізоциму, ФІ, ФЧ, активності НК-клітин у назальних змивах, рівнів ГЛ та ГА у сироватці крові.

Установлено, що застосування гелю «Імбирол» та мазі «Піносол» на тлі хімічної травми приводить до відновлення метаболічної активності фагоцитів, рівня лізоциму, ФІ, ФЧ, активності НК-клітин у назальних змивах, рівнів ГЛ та ГА у сироватці крові до значень інтактного контролю. На тлі бактеріального риніту, також відбувалося відновлення вказаних показників, при цьому вміст ГА у сироватці крові достовірно перевищував показники інтактного контролю – для гелю «Імбирол» на 33% та мазі «Піносол» на 36,3%. Застосування засобів з антиоксидантною активністю за умов бактеріального риніту повністю компенсувало недостатність власних клітинної та гуморальної ланок неспецифічної резистентності.

Достовірно встановлено розвиток некомпенсованих вогнищевих некротично-деструктивних змін в різних відділах слизової оболонки дихальної порожнини носу, проліферативної запальної реакції у власній пластинці, гіперсекреції епітеліальних клітин слизово-серозних залоз підслизового шару на моделях хімічного та бактеріального ринітів у експериментальних тварин. Застосування місцевих антиоксидантних засобів знижує виразність морфологічних ознак риніту. Ефективність гелю «Імбирол» перевищувала таку мазі «Піносол» на моделі хімічного риніту за ознаками місцевого і резорбтивного впливу: зменшення набряку, секреції, гіперемії, падіння маси тіла, підвищення температури.

Отримані результати патогенетично обґрунтовують можливість та доцільність застосування місцевих лікувальних засобів з антиоксидантною активністю – гелю «Імбирол» та мазі «Піносол» – при гострому асептичному та бактеріальному ринітах.

Ключові слова: окисний стрес, антиоксиданти, хімічний, бактеріальний риніт, імунний статус, гель «Імбирол», мазь «Піносол».

Список публікацій здобувача:

1. Kryghna S.I., Kievskaiia Yi.A., Bagmut I.Yu., Titkova A.V., Filipchenko S.N. The study of new composition and acute toxicity of gel "imbyrol" Medical Education, 2017. -№ 3.-P.221-224
2. Крижна С.І., Київська Ю.О., Козар В.В., Багмут І.Ю. Дослідження впливу гелю «Імбирол» на морфологічний стан слизової носу щурів при моделюванні травматичного риніту. Актуальні проблеми транспортної медицини. – 2017. –№2(48). – С.66-70.
3. Крижна С.І., Київська Ю.О., Тюпка Т.І., Козар В.В. Дослідження впливу гелю «Імбирол» на показники ПОЛ та АОС слизової носу щурів при моделюванні травматичного риніту. Вісник проблем біології і медицини. – 2017. – Вип.4, Т.3(141). – С. 150-153.
4. Крижна С.І., Київська Ю.О., Козар В.В. Стан імунологічної резистентності в умовах експериментального бактеріального риніту та його фармакологічної корекції. Вісник проблем біології і медицини. – 2018. – Вип.1, Т.2(143). – С. 137-140.
5. Крижна С.І., Київська Ю.О., Козар В.В. Стан клітинної та гуморальної ланок імунітету в умовах експериментального риніту та його фармакологічної корекції. Вісник проблем біології і медицини. – 2018. – Вип.2, Т.3(144). – С. 144-147.
6. Інформаційний лист № 141-2018 МОЗ України, Укрмедпатентінформ «Комплекс ефірних олій як потенційний коректор неспецифічного імунітету при ринітах різного генезу» Крижна С.І., Київська Ю.О.
7. Крижна С.І., Київська Ю.О., Тюпка Т.І., Козар В.В. Дослідження стану оксидативного стресу при експериментальних ринітах різного генезу. Вісник проблем біології і медицини. – 2019. – Вип.1, Т.1(148). – С. 133-137.
8. Крижна С.І., Київська Ю.О., Тіткова А.В., Багмут І.Ю. Ступінь порушення імунітету в умовах експериментального риніту. Конференція «Здобутки клінічної та експериментальної медицини». 2018. С. 34-35.

9. S.I. Kryghna, O.I. Zalyubovska, T.I. Tiupka, Yu.A. Kievskya. Features of the immune response in the experimental rhinitis and in the applying of gel "Imbirol". Conference "Theoretical and practical aspects of the use of biomedical markers in fundamental and applied medicine and biology. March 27-29 2018, Prague, The Czech Republic. Biomedical markers in fundamental and clinical medicine. Vol.2, №1, 2018. P. 75-76.
10. Kryzhna S.I., Kievskya Yu.A., Tyupka T.I., Kozar V.V. Application of natural antioxidants in the composition of gel "Imbirol" for rhinitis of different genesis. Journal of education, health and sport. Vol.2, №3, 2018. P. 47-50.
11. Крижна С.І., Київська Ю.О. Визначення коефіцієнту оксидативного стресу при експериментальному хімічному риніті. Національний фармацевтичний університет, м. Харків, I наукова-практична інтернет-конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб ті їхня фармакологічна корекція» (18 жовтня 2018р.) -Х.: Вид-во НФаУ, 2018. - 276с. стр 133-134.
12. Крижна С.І., Київська Ю.О. Визначення протизапальної активності гелю «Імбирол». XVII-е чтения В.В. Подвысоцкого: Бюллетень материалов научной конференции (24-25 мая 2018 года). - Одесса: УкрНИИ медицины транспорта, 2018.-187с.С. 113-114.
13. Визначення анти ексудативної активності нової комбінованої мазі «Імбирол» Київська Ю.О., Козар В.В., Крижна С.І. Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів»: матеріали I Міжнар. наук.-практ. конф. (30-31 березня 2017 року). В 2-х.т., Т.2. – Х. : НФаУ, 2017. – 392 с. – (Серія «Наука»). С.160.

ABSTRACT

Kievskaiia Yi.A. Prooxidative-antioxidative and immune mechanisms at experimental rhinitises of different genesis and pathogenetic grounding of the local application of natural antioxidants.

The thesis for a degree of Candidate of Biology (PhD) in specialty 14.03.04 – pathophysiology. – The Sumy State University, Sumy, 2019.

Prevalence of acute respiratory diseases that take the first place among the causes of temporary disability, according to WHO data, tendency for the sick rate increase among the population on the territory of Ukraine, resulting in development of serious complications, bad state of their monitoring and the demand for them at the local market of effective drugs for rhinitis treatment created a background for further study of physiopathology aspects of rhinitis and its pharmacotherapeutic correction. Prevalence of acute respiratory disease is determined in great extent by social-economic situation within the country and by the number of other factors. Economic loses caused by the flu epidemics in 2014-2015 reached more than 280 million of grivnas, and this sum of money does not take into account personal expenses of the sick for disease. In order to change the situation for better, it is necessary to organize a systemic work at the state and scientific level, to determine physiopathology basis for development of new pharmacological drugs for prevention of the inflammatory process generalization.

In any case the background for the rhinitis development is the tissue damage, and therefore, inflammation is the only programmed and stereotype mechanism of the tissue regeneration after trauma. Inflamed cells release a number of active reactive types of oxygen / nitrogen at the site of inflammation, resulting in the exaggeration of oxygen stress. From the other side, the number of reactive types can initiate intracellular cascade of signalization that enhances expression of the anti-inflammatory gene. Therefore, inflammation and oxidation stress are closely interrelated pathophysiology phenomena. Inability to select agents, which are specifically intended for both inflammation and oxidative stress or non simultaneous application of both anti-oxidative and anti-inflammatory agents that block some oxidative and / or anti-inflammatory ways, or exceed the others, can be responsible for failures of anti-

oxidative clinical trials. This idea made us revise basic aspects of oxidative stress and inflammation and their interrelation and dependency. By means of literature analysis it has been determined that antioxidants on the basis of natural ingredients in combination with anti-inflammatory activity is the most valuable therapeutic agent for the diseases rate reduction, caused by oxidative stress. The lack of local medicinal agents with the complex action for rhinitis treatment at the market has been proved. Perspective components for such drug development are essential oils with a complex of pharmacologic activity, first of all, anti-oxidative one.

As some oxidants and anti-oxidants take part in pathogenesis of the inflammatory process under experimental rhinitises, it is necessary to carry out a complex investigation of some parameters of oxidative stress and anti-oxidative protection for determination of the role of oxidative-antioxidative misbalance during chemical and bacterial rhinitises. So, it was logically correct to investigate causes of certain pathophysiology mechanisms and make the ground for application of antioxidants of the natural origin with the purpose of treatment. Taking into account a range of such peculiarities, medicinal agents with anti-oxidative activity «Imbirol» gel and «Pinosol» ointment have been selected by their quality. «Imbirol» gel was developed by NPhaU under the supervision of prof. I.I. Baranova. It contains a complex of essential oils (ginger, clary, marjoram and manuka) with antioxidative properties for rhinitis treatment. It is well known that the course of inflammatory process stipulates oxidative stress development of a tissue. At first, we demonstrated such mechanisms of inflammation interdependence and oxidative stress. Experiments were carried out on 208 underbred male rats with the body weight 180-220 g. Tested animals were kept in the vivarium of the central scientific-research laboratory in NPau, Kharkiv (chair – O. Ю. Kosheva, Candidate of Pharmacy, senior scientific collaborator); the rats were fed with standard nutritive ration and were provided with non-restricted water supply, 6 rats in standard metallic cages without influence of artificial light sources. All the interferences and euthanasia were performed in accordance with principles of «European Convention concerning animal's protection, which are used for experimental and other purposes (Strasburg, 1986., in accordance with the changes put in 1998 p.)

and resolution of the V-th National Bioethics Congress (Kyiv, 2013) [58, 84]. The bioethics commission on the basis of the NPhaU didn't reveal any moral-ethic violations in the course of scientific-research work (protocol № 3 from 15.03.2017). The rats were taken out of the experiment by means of decapitation under light inhalation narcosis (desiccator). The experiment was carried out in the central scientific-research laboratory of NPhaU, certified by the State Pharmacological Center by the Ministry of Health in Ukraine (registration number № 008/11 from 18.10.2011).

The first model of acute inflammation of the nasal cavity was chemical rhinitis caused by inserting of the wet tampon saturated with 40 % solution of caustic sodium into each nostril for 1-2 sec. Experimental model of the bacterial rhinitis was carried out by intranasal single twenty-four-hour culture introduction of the museum *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 stain (into each nasal cavity) by 0,2 mm³. Rats were divided into 4 groups: first group – intact control, the second – chemical rhinitis, the animals of the third and fourth group were introduced «Imbirol» gel and «Pinosol» ointment, respectively, by intranasal application against the background of chemical/bacterial rhinitis. The observation period was 14 days. POL/AOP parameters, immunological indicators, clinical characteristics were studied by the use of intranasal washings and blood serum that were studied on the 3-d and 14-th day of the experiment. Pathomorphology study of the nasal mucous membrane was performed on the 3-d and 14-th day of the experiment.

It has been determined, that in the pathogenesis of experimental rhinitises POL/AOP abnormalities have significant importance, what is confirmed by the indicators of oxidative stress coefficient: in case of chemical rhinitis modeling, its increase was observed into intranasal washings up to 9,52 on the 3-d day and to 6,7 on the 14-th day of the experiment; in the blood serum – to 7,7 on the 3-d day and to 3,72 on the 14-th day; in case of bacterial rhinitis – to 14,14 on the 3-d day and to 8,52 on the 14-th day; in the blood serum – to 15,48 on the 3-d day and to 9,64 on the 14-th day. The dynamics of changes of oxidative stress coefficient demonstrates decompensated state of prooxidative-antioxidative system and lack of its own systems to compensate changes till the end of the experiment on both experimental models of rhinitises. The

abnormal level of POL and AOP systems was more significant at experimental rhinitises in accordance with blood serum characteristics (at the systemic level). The level of POL and AOP was more significant at bacterial rhinitis by the blood serum characteristics (at the systemic level). Strong positive effect of natural antioxidants on the abnormal prooxidative-antioxidative homeostasis at bacterial rhinitis has been observed. POL / AOP parameters regeneration on the 14-th day of the experiment was characterized by the coefficient reduction of oxidative stress: against the background of chemical trauma in the intranasal washings in case of «Imbirol» gel application to 1,08 and in case of «Pinosol» ointment use to 1,41; in the blood serum – up to 1,29 and 2,79 respectively; against the background of bacterial rhinitis in intranasal washings to 0,66 and 0,86; in the blood serum – to 1,055 and to 1,94. Local application of natural antioxidants leads to regeneration of decompensated prooxidative-antioxidative balance of nasal mucous membrane in terms of experimental rhinitis of different genesis.

The immune status of rats against the background of inflammatory process of the nasal mucous membrane of different character has also been studied. Investigations of the cellular and humoral immunity have been carried out on the model pathology of chemical and bacterial rhinitises under conditions of the local antioxidants – «Imbirol» gel and «Pinosol» ointment application.

It has been determined that in the pathogenesis of both experimental rhinitises a significant role belongs to abnormalities on the side of cellular and humoral links of nonspecific resistance both at local and systemic levels. The misbalance level of the immune system was higher at bacterial rhinitis, that was characterized by the more marked metabolic activity of neutrophils at the end of the experiment – in 1,2 times more significant inhibiting of other nonspecific resistance parameters: lysosome level, Phagocytosis Index (PI), Phagocytal number (PN), NK-cells activity in the nasal washings, haemolysis levels (HL) and Gamaglutin (GA) in the blood serum.

It has been shown that the application of «Imbirol» gel and «Pinosol» ointment against the background of chemical trauma leads to regeneration of the phagocytes metabolic activity, lysozyme level, PI, PN, NK-cells activity in the nasal washings, GL and HA levels in the blood serum to the numbers of intact control against the

background of bacterial rhinitis, regeneration of above mentioned parameters was also observed, at the same time the GA content in the blood serum significantly exceeded intact control parameters – in 33% for «Imbirol» gel and in 36,3% for «Pinosol» ointment. The use of agents with antioxidative activity in terms of bacterial rhinitis completely compensated insufficiency of the own cellular and humoral links of non-specific resistance.

The development of uncompensated focal necrotic-destructive changes in different divisions of the mucous membrane of the nasal, proliferative inflammatory reaction in its own plate, hyper secretion of epithelial cells of the mucous-serous glands in the submucous layers on the models of chemical and bacterial rhinitises in experimental animals have been determined for sure. The use of local antioxidative agents reduces the expressiveness of morphologic characteristics of rhinitis. The «Imbirol» gel effectiveness exceeded the one for «Pinosol» ointment on the model of chemical rhinitis by parameters of the local and resorption effect: decrease of swelling, secretion, hyperemia, weigh loss, fever.

The obtained results give pathogenetic explanation to the possibility and appropriateness for application of local drugs with antioxidative activity – «Imbirol» gel and «Pinosol» ointment – for the treatment of acute aseptic and bacterial rhinitis conditions.

Kew words: oxidative stress, antioxidatives, chemical, bacterial rhinitis, immune status, rats, «Imbirol», «Pinosol» ointment.

The list of publications of the candidate:

1. Kryghna S.I., Kievskaia Yi.A., Bagmut I.Yu., Titkova A.V., Filipchenko S.N. The study of new composition and acute toxicity of gel "imbyrol" Medical Education, 2017. -№ 3.-P.221-224

2. Kryghna S.I., Kievvaskaia Yi.O., Kozar V.V., Bagmut I.Yi. The study of «Imbirol» gel on morphologic state of the mucous nasal membranes of rats at modeling of traumatic rhinitis. Actual problems of transport medicine. – 2017. –№2(48). – P.66-70.

3. Kryghna S.I., Kievvskaia Yi.O., Tyupka T.I., Kozar V.V. The study of «Imbirol» gel on POL and AOP parameters of the mucous membranes of the mucous nasal cavity in rats at modeling of traumatic rhinitis. *Visnyk problem biologii I medycyny.* – 2017. – Edition 4, V.3(141). – P. 150-153.

4. Kryghna S.I., Kievvskaia Yi.O., Kozar V.V. The state of immunologic resistance in terms of experimental bacterial rhinitis and its pharmacological correction. *Visnyk problem biologii I medycyny.* – 2018. – Edition1, V.2(143). – P. 137-140.

5. Kryghna S.I., Kievvskaia Yi.O., Kozar V.V. The state of cellular and humoral links in terms of experimental rhinitis and its pharmacological correctness. *Visnyk problem biologii I medycyny.* – 2018. – Edition.2, V.3(144). – P. 144-147.

6. Information list № 141-2018 Ministry of Health of Ukraine, Ukrmedpatentinform «Complex of essential oils as a potential corrector of a nonspecific immunity in rhinitises of different genesis» Kryghna S.I., Kievvskaia Yi.O.

7. S.I. Kryghna, Yu.A. Kievska, T.I. Tyupka, V.V. Kozar Investigation of the state of oxidative stress in experimental rhinitis of different genesis. *Visnyk of problems of biology and medicine.* 2019 - Edition 1, Volume 1 (148). - pp. 133-137.

8. S.I. Kryghna, Yu.A. Kievska, Bagmut I.Yu., Titkova A.V., «The level of immunity disorder in terms of experimental rhinitis» conference abstract «Achievements of clinical and experimental medicine». 2018. P. 34-35.

9. S.I. Kryghna, O.I. Zalyubovska, T.I. Tyupka, Yu.A. Kievska. Features of the immune response in the experimental rhinitis and in the applying of gel «Imbirol». Conference «Theoretical and practical aspects of the use of biomedical markers in fundamental and applied medicine and biology». March 27-29 2018, Prague, The Czech republic. *Biomedical markers in fundamental and clinical medicine.* Vol.2, №1, 2018. P. 75-76.

10. S.I. Kryghna, Yu.A. Kievska., Tyupka T.I., Kozar V.V. APPLICATION OF NATURAL ANTIOXIDANTS IN THE COMPOSITION OF GEL "IMBIROL" FOR RHINITIS OF DIFFERENT GENESIS. *Journal of education, health and sport.* Vol.2, №3, 2018. P. 47-50.

11. S.I. Kryghna, Yu.A. Kievska Determination of the oxidative stress factor in experimental chemical rhinitis. National University of Pharmacy, Kharkiv, I Scientific and practical Internet conference with international participation "Mechanisms of development of pathological processes and diseases and their pharmacological correction" (October 18, 2018) -X.: Edition of NFaU, 2018.-276p. pp. 133-134.

12. S.I. Kryghna, Yu.A. Kievska Determination of anti-inflammatory activity of the gel "Imbirol". XVIIth readings of V.V. Podysotsky: Bulletin of the scientific conference materials (May 24-25, 2018). -Odessa: UkrNII Transport Medicine, 2018.-187p. 113-114.

13. DETERMINATION OF ANTIEXUDATIVE ACTIVITY OF THE NEW COMBINED OINTMENT «IMBIROL» Kievvskaia Yi.A., Kozar V.V Kryghna S.I. National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine, Lyiki – lyudiny. Modern problems of pharmacotherapy and administration of drugs»: materials of the I-st International scientific-practical conference (30-31 March 2 017). In 2 volumes, V .2. – Kh. : NPhaU, 2017. – 392 p. – (Series «Nauka»). P.160.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	19
ВСТУП.....	21
РОЗДІЛ I. СУЧАСНІ АСПЕКТИ ЕТІОЛОГІЇ І ПАТОГЕНЕЗУ РИНІТІВ ТА ЗАСТОСУВАННЯ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ МІСЦЕВОЇ ДІЇ З АНТИОКСИДАНТНОЮ АКТИВНІСТЮ ДЛЯ ЇХ ЛІКУВАННЯ.....	27
1.1. Сучасні уявлення про етіологічні та патогенетичні особливості ринітів.....	27
1.1.1. Патогенетичні особливості розвитку окислювального стресу при запаленні.....	29
1.1.2. Імунологічні механізми слизової оболонки при запаленні	38
1.2. Загальні принципи лікування та антиоксидантна терапія ринітів.....	45
1.2.1. Визначення ролі натуральних сполук як засобів з антиоксидантною та протизапальною активністю.....	45
РОЗДІЛ II. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ.....	52
РОЗДІЛ III. ПОРУШЕННЯ ПРООКСИДАНТНО- АНТИОКСИДАНТНОГО ГОМЕОСТАЗУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕН- ТАЛЬНИХ РИНИТАХ РІЗНОГО ГЕНЕЗУ.....	70
3.1. Стан системи перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту при експериментальному хімічному риніті.....	70
3.2. Стан системи перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту при експериментальному бактеріальному риніті.....	76
3.3. Визначення коефіцієнту оксидативного стресу при експериментальних ринітах різного генезу.....	80
РОЗДІЛ IV. ДОСЛІДЖЕННЯ ІМУННОГО СТАТУСУ ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ РИНИТОМ РІЗНОГО ГЕНЕЗУ.....	88

4.1. Стан клітинного та гуморального імунітету при експериментальному хімічному риніті.....	88
4.2. Стан клітинного та гуморального імунітету при експериментальному бактеріальному риніті.....	96
РОЗДІЛ V. ВПЛИВ ПРИРОДНИХ АНТИОКСИДАНТІВ НА ПОКАЗНИКИ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО ГОМЕОСТАЗУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ РИНІТАХ РІЗНОГО ГЕНЕЗУ.....	105
5.1. Обґрунтування складу гелю з комплексом ефірних олій та визначення його біологічної активності.....	105
5.2. Стан системи перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту за умов застосування гелю «Імбирол» та мазі «Піносол» при експериментальному хімічному риніті.....	107
5.3. Стан системи перекисногоперекисногоперекисного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту при експериментальному бактеріальному риніті за умов застосування гелю «Імбирол» та мазі «Піносол».....	114
5.4. Визначення коефіцієнту оксидативного стресу при експериментальних ринітах різного генезу при місцевому застосуванні з лікувальною метою гелю «Імбирол» та мазі «Піносол».....	119
РОЗДІЛ VI. ВПЛИВ ПРИРОДНИХ АНТИОКСИДАНТІВ НА ПОКАЗНИКИ ІМУННОГО СТАТУСУ ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМИ РИНІТАМИ РІЗНОГО ГЕНЕЗУ.....	127
6.1. Стан клітинного та гуморального імунітету при експериментальному хімічному риніті за умов застосування місцевих антиоксидантів (гелю «Імбирол» та мазі «Піносол»).....	127
6.2. Стан клітинного та гуморального імунітету при експериментальному бактеріальному риніті за умов застосування місцевих антиоксидантів (гелю «Імбирол» та мазі «Піносол»).....	134

РОЗДІЛ VII. ГІСТОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ВИКОРИСТОВУВАНИХ АНТИОКСИДАНТІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ РИНИТАХ РІЗНОГО ГЕНЕЗУ.....	142
7.1. Гістологічне дослідження перебігу запалення і процесів регенерації слизової оболонки носових ходів при хімічному експериментальному риніті за природних умов його перебігу та на тлі застосування антиоксидантів.....	142
7.2. Гістологічне дослідження перебігу запалення і процесів регенерації слизової оболонки носових ходів при бактеріальному експериментальному риніті за природних умов його перебігу та на тлі застосування антиоксидантів.....	152
РОЗДІЛ VIII. ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ВИКОРИСТОВУВАНИХ АНТИОКСИДАНТІВ ЗА КЛІНІЧНИМИ ОЗНАКАМИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ХІМІЧНОМУ РИНИТІ	162
АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	169
ВИСНОВКИ.....	198
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	201
ДОДАТКИ.....	221

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АОЗ	-	антиоксидантний захист
АФК	-	активна форма кисню
АФІ	-	активні фармацевтичні інгредієнти
ВГ	-	відновлений глутатіон
ВДНЗУ	-	Вищий державний навчальний заклад України
ВДШ	-	верхні дихальні шляхи
ВООЗ	-	Всесвітня організація охорони здоров'я
ГА	-	гетерофільні аглютиніни
ГЛ	-	гемолізینی
ГРЗ	-	гострі респіраторні вірусні захворювання
ГРВЗ	-	гострі респіраторні вірусні захворювання
ДЕЦ	-	Державний експертний центр
ДК	-	дієнові кон'югати
ДФ ЛЗ	-	Державний Формуляр ЛЗ
ДФУ	-	Державна Фармакопея України
ДФУ1.0	-	Державна фармакопея України
ЄФ	-	Європейська Фармакопея
ІК	-	інтактний контроль
Кат	-	каталаза
КОС	-	коефіцієнт оксидативного стресу
КУО	-	колонієутворююча одиниця
ЛД ₅₀	-	летальна доза
ЛЗ	-	лікарський засіб
ЛП	-	лікарський препарат
МК	-	масовий коефіцієнт
МКЯ	-	методи контролю якості
МКХ	-	міжнародний класифікатор хвороб
М.м.	-	відносна молекулярна маса

МНН	-	міжнародна непатентована назва
МОЗ	-	міністерство охорони здоров'я
МС	-	механічна стабільність
МЛЗ	-	м'який лікарський засіб
НАМН	-	Національна академія медичних наук
НСТ	-	нитросиній тетразолій
НФаУ	-	Національний фармацевтичний університет
ПОЛ	-	перекисне окиснення ліпідів
РСЗ	-	робочий стандартний зразок
СЗ	-	стандартний зразок
ТБК	-	тіобарбітурова кислота
ТЗ	-	тест - зразок
у. о.	-	умовні одиниці
е. о.	-	ефірна олія
ФІ	-	фагоцитарний індекс
ФЧ	-	фагоцитарне число
ФР	-	фармацевтичний ринок
ЦНДЛ	-	центральна наукова дослідна лабораторія
НК	-	натуральні кілери
PhEur	-	European Pharmacopoeia (Європейська Фармакопея)
USP	-	United States Pharmacopoeia (Фармакопея США).

ВСТУП

Поширеність запальних захворювань дихальних шляхів в Україні, як і у світі в цілому, не має тенденції до зниження, а ускладнення, що виникають, часто вкрай небезпечні і смертельно загрожують життю хворого. Згідно з даними Державної статистичної служби, хвороби дихальних шляхів займають перше місце в структурі захворюваності населення України [7]. Тому проблема підвищення якості лікування та профілактики запальних захворювань слизової оболонки носа, насамперед, риніту – є однією з актуальних у медицині. Як правило, гострий риніт має інфекційне походження і постійно реєструється при грипі та гострих респіраторних вірусних інфекціях [57]. До того ж, несвоєчасне і неправильне лікування цієї патології може викликати значні життєво небезпечні ускладнення (гайморит, абсцес головного мозку, гнійний менінгоенцефаліт, тромбофлебіт сигмовидного і кавернозного синусів), відсоток яких не зменшується, незважаючи на досягнення сучасної медичної науки, що і зумовлює соціально-економічну значимість даної проблеми [75].

Сьогодні відомо, що підґрунтям для розвитку риніту є пошкодження тканини і розвиток запалення. Запалення включає в себе розгалуженні молекулярні реакції і клітинну активність, які призначені для відновлення тканини. Доведено супроводження такого перебігу порушенням прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу та виникнення патологічного кола, що підтримує і перебіг запалення, і зсуви антиоксидантного захисту тканин. Більш того, у процесі типової запальної реакції спостерігається дисфункція тканин внаслідок дії прооксидантних чинників, через протеолітичну активність та регенерацію, продукцію нових гуморальних факторів для росту клітин та реформування нової функціональної та сполучної тканини [106].

Лікування ринітів на початкових стадіях розвитку є оптимальною умовою профілактики тяжких інфекційних внутрішньочерепних ускладнень і визначає необхідність постійного його вдосконалення [9]. Велика кількість досліджень присвячена вивченню здатності антиоксидантів запобігати хворобам на тлі

запалення. Проте результати таких досліджень викликали велику невизначеність щодо впливу антиоксидантних засобів як на перебіг запалення, так і на імунологічні показники, та виявили необхідність подальшого вивчення цього питання [197, 204].

Варто зазначити, що аналіз товарної структури українського ринку назальних засобів показав, що їх асортимент формується переважно за рахунок імпортованих препаратів, які є продуктами синтетичного походження, містять консерванти, барвники, що обумовлює побічні дії [79]. Значна частина цих препаратів випускається у формі крапель або спреїв, що детермінує короткочасність фармакологічної дії. Останнім часом набули широкого застосування при терапії ринітів гелі з вмістом ефірних олій природного походження, що мають ряд певних переваг, а саме: безпечність та зручність використання в домашніх умовах, можливість застосування у дітей різних вікових груп, фізіологічне введення шляхом вдихання з повітрям [6, 78]. Враховуючи вищевикладене, проведення дослідження щодо застосування гелю з вмістом природних ефірних олій та антиоксидантного засобу задля встановлення впливу антиоксидантних властивостей на перебіг ринітів різного походження є доцільним.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету («Фармакологічні дослідження біологічно-активних речовин і лікарських засобів синтетичного та природного походження, їх застосування в медичній практиці» (НДР № 0103U000478, 2014-2018 рр.) та «Розробка складу, технології та біофармацевтичні дослідження лікарських засобів на основі природної та синтетичної сировини» НДР № 0114U000945, 2014-2018 рр.) та проблемної комісії «Фармація» МОЗ і НАМН України. Дисертант був співвиконавцем зазначеної теми.

Мета дослідження – з'ясування особливостей прооксидантно-антиоксидантних та імунологічних механізмів при експериментальних ринітах

різного генезу та патогенетичне обґрунтування місцевого застосування природних антиоксидантів.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити наступні **завдання**:

1. Оцінити динаміку та ступінь змін прооксидантно-антиоксидантної рівноваги та імунного статусу при експериментальних ринітах різного генезу (хімічному та бактеріальному).

2. Встановити вплив місцевих лікувальних засобів з антиоксидантною активністю: гелю «Імбирол» та мазі «Піносол» на прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз та імунний статус при експериментальних ринітах різного генезу.

3. Оцінити ефективність застосування вказаних місцевих лікувальних засобів при експериментальних ринітах різного генезу за результатами гістологічного дослідження.

4. Встановити ефективність застосування гелю «Імбирол» та мазі «Піносол» на перебіг експериментального риніту за клінічними ознаками.

Об'єкт дослідження – механізми ринітів різного генезу та патогенетичне обґрунтування застосування місцевих антиоксидантних засобів природного походження.

Предмет дослідження – прооксидантно-антиоксидантні та імунні механізми, доцільність використання гелю «Імбірол» та «Піносол».

Методи дослідження. Для розв'язання поставлених у роботі завдань були використані: ретроспективний, логічний, аналітичні методи – для аналізу даних спеціальної літератури, загальноприйняті: патофізіологічні, біохімічні, імунологічні, гістоморфологічні методи дослідження та методи математичної статистики (обробка отриманих експериментальних даних за допомогою прикладних комп'ютерних програм STATISTIKA 6.0 та MS EXCEL7.0)

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше наведено теоретичне узагальнення і нове вирішення актуальної науково-практичної задачі сучасної патологічної фізіології – роль антиоксидантів у патогенезі ринітів

різного генезу, що дозволяє патогенетично обґрунтувати принципи корекції даного патологічного процесу.

Доведено, що розвиток хімічного та бактеріального ринітів супроводжується некомпенсованим оксидативним стресом у експериментальних тварин протягом усього двотижневого періоду спостереження як на місцевому, так і загальному рівнях. Такі зсуви відбувалися на тлі підвищення рівня ДК і ТБК-реактантів як у назальних змивах, так і в сироватці крові, та зниження активності АОЗ.

Встановлено достовірні некомпенсовані зміни показників місцевого імунітету слизової оболонки носу та гуморального вродженого імунітету в інтраназальних змивах та сироватці крові на моделях хімічного та бактеріального ринітів.

Доведено, що застосування місцевих лікувальних засобів з антиоксидантними властивостями – гелю «Імбирол», розробленого за участю дисертанта, та мазі «Піносол» – обумовлює потужний нормалізуючий вплив на перебіг хімічної травми та бактеріального запалення на місцевому та загальному рівнях за показниками активності ПОЛ та АОЗ.

Терапія із застосуванням гелю «Імбирол» та мазі «Піносол» сприяла нормалізації показників імунного статусу, які вірогідно не відрізнялися від інтактного контролю наприкінці експерименту. Ефективність гелю «Імбирол» дорівнювала такій мазі «Піносол» за показниками гуморального захисту (активність лізоциму в назальному секреті, рівень природних антитіл в сироватці крові), фагоцитарної та метаболічної активності нейтрофілів та активності натуральних кілерних клітин.

Достовірно встановлено розвиток некомпенсованих вогнищевих некротично-деструктивних змін в різних відділах слизової оболонки дихальної порожнини носу на моделях хімічного та бактеріального ринітів у експериментальних тварин. Застосування місцевих лікувальних засобів знижує виразність вказаних морфологічних ознак риніту, при цьому активність гелю «Імбирол» перевищувала ступінь впливу мазі «Піносол» на моделі хімічного риніту за ознаками місцевого (зменшення гіперемії, набряку, секреції), і

резорбтивного (загальнотрофічні процеси, зменшення маси тіла, підвищення температури тіла) впливу.

Наукова новизна проведених досліджень підтверджена інформаційним листом № 141-2018 МОЗ України, Укрмедпатентінформ «Комплекс ефірних олій як потенційний коректор неспецифічного імунітету при ринітах різного генезу» Крижна С.І., Київська Ю.О. від 2018 р.

Практичне значення одержаних результатів. Результати роботи поглиблюють та розширюють сучасні погляди на патогенетичні механізми риніту. На підставі отриманих даних запропоновано застосування місцевих антиоксидантів як патогенетичних коректорів ринітів різного генезу на прикладі гелю «Імбирол» та мазі «Піносол».

Окремі фрагменти наукових досліджень упроваджено в навчальний процес на кафедрах патологічної фізіології Національного фармацевтичного університету, Харківського національного медичного університету; кафедрі анатомії, гістології, клінічної анатомії і оперативної хірургії Чорноморського національного університету імені Петра Могили; кафедрі патологічної фізіології і ЦНДЛ Буковинського державного медичного університету; кафедрі загальної та клінічної патологічної фізіології Одеського національного медичного університету (акти впровадження від 27.04.2018 р., від 05.11.2018 р., від 16.02.2018р., від 20.11.2018 р., від 28.08.2018 р. відповідно).

Особистий внесок аспіранта. Дисертаційна робота є самостійною завершеною науковою працею. У комплексі проведених досліджень особисто аспірантом проведено інформаційний пошук та аналіз даних літератури стосовно етіології та патогенезу й сучасного стану фармакотерапії захворювань верхніх дихальних шляхів (ВДШ). Обґрунтовано та експериментально відтворено хімічний та бактеріальний риніти, проведено низку патофізіологічних та фармакологічних досліджень на базі центральної науково-дослідної лабораторії (ЦНДЛ) Харківського національного фармацевтичного університету (науковий керівник – проф. Крижна С. І., завідувач лабораторії – ст.н.с. О. Ю. Кошева). Здобувачем особисто статистично опрацьовано та проаналізовано одержані

результати, написано всі розділи дисертації та сформульовані висновки, підготовлено матеріали до публікації. Особиста участь в усіх опублікованих наукових працях зі співавторами вказується за текстом дисертації, а також в авторефераті - у списку фахових публікацій.

Апробація результатів дисертації. Основні теоретичні положення, практичні результати з теми дисертаційної роботи викладені та обговорені на: I Міжнародній науково-практичній конференції «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (Харків, 2017); Підсумковій науково – практичній конференції «Здобутки клінічної та експериментальної медицини» (Тернопіль, 2018); Conference «Theoretical and practical aspects of the use of biomedical markers in fundamental and applied medicine and biology» (March 27-29 2018, Prague, The Czech Republic); I Науково-практичній інтернет – конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція» (Харків, 2018); Наукова конференція «Визначення протизапальної активності гелю «Імбирол» (Одеса, 2018).

Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 13 наукових робіт, серед яких 7 статей (5 статей у фахових наукових виданнях України, 2 статті у виданнях інших держав, 1 інформаційний лист, та 5 тез доповідей).

Обсяг та структура дисертації. Дисертація виконана на 231 сторінці машинопису, складається з вступу, 8 розділів, висновків, додатків, списку використаних джерел, що містить 204 найменування, серед яких 119 іноземні. Робота ілюстрована 39 таблицями та 26 рисунками. Обсяг основного тексту – 188 сторінок.

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНІ АСПЕКТИ ЕТІОЛОГІЇ І ПАТОГЕНЕЗУ РИНИТІВ ТА ЗАСТОСУВАННЯ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ МІСЦЕВОЇ ДІЇ З АНТИОКСИДАНТНОЮ АКТИВНІСТЮ ДЛЯ ЇХ ЛІКУВАННЯ

1.1. Сучасні уявлення про етіологічні та патогенетичні особливості ринітів

Серед причин тимчасової втрати працездатності згідно з даними ВООЗ гострі респіраторні захворювання (ГРЗ) посідають перше місце, і навіть в міжепідемічний період ними хворіє шоста частина населення планети. На території України хвороби органів дихання залишаються найбільш розповсюдженою патологією в структурі захворюваності населення. Щорічно дорослі хворіють в середньому 2 рази на рік, школярі – 3 рази, дошкільнята – 6 разів [7, 44]. В Україні хворіють на грип та інші гострі респіраторні вірусні захворювання (ГРВІ) щорічно від 10 до 14 млн. осіб, що складає 25-30% від всієї загальної захворюваності і близько 75-90% інфекційної захворюваності в країні. Причому епідеміологічна ситуація на території України з 2014 р. характеризувалася тенденцією до зростання чисельності захворюваності населення [17, 22].

Респіраторний синдром – це синдром, який характеризує клінічні прояви уражень респіраторного тракту на будь-якому його рівні, що виникають внаслідок дії вірусних, бактеріальних, хімічних або фізичних агентів і викликаних ними локальних або системних запальних процесів [82]. До факторів, що провокують розвиток запалення, відносять переохолодження організму, емоційне виснаження, хронічна втома, авітаміноз, зниження імунітету [92, 182]. До етіологічних чинників ринітів (як складової ГРЗ) належать інфекційні, алергічні та вазомоторні дисфункції. До групи інфекційних входять захворювання як бактеріальної, так і не бактеріальної (хімічні, травматичні) природи. Лише вірусів, збудників гострих респіраторних вірусних інфекцій (ГРВІ), налічують понад 350 видів. Найбільш вивченими серед них є віруси грипу, парагрипу, респіраторно-синцитіальний

вірус, риновіруси, коронавіруси, реовіруси, аденовіруси, деякі серотипи ентеровірусів. У переважній більшості випадків ця патологія не несе в собі безпосередньої загрози життю і не викликає тривалої непрацездатності [13, 18]. Проте в останнє десятиліття, згідно з даними ВООЗ, менінгіт і менінгоенцефаліт як ускладнення грипу (одного з видів ГРВІ, що входить до структури ГРЗ) розвиваються в 40 разів частіше, ніж в попередні десятиліття. Летальні випадки при грипі та інших ГРВІ спостерігаються частіше при ускладненні перебігу пневмонією; відзначається також зростання летальності на їх фоні від хронічних захворювань (ішемічна хвороба серця, порушення мозкового кровообігу та інші). Грип та інші ГРВІ продовжують залишатися малоконтрольованими інфекціями. Поширення ГРЗ в значній мірі визначається економічною ситуацією в державі, соціально-економічною обстановкою і рядом інших факторів [30, 68]. Економічні втрати в сезон грипу 2014-2015 року склали понад 280 млн. грн. без урахування особистих витрат хворих. Кожен випадок грипу для держави обходиться в 179 грн. Світова практика доводить можливість запобігти поширенню цієї інфекції за умови охоплення щепленням сучасними вакцинами понад 70% населення [7, 62]. Торік в Україні вакциновано лише 0,33%. Тому грип залишається некерованою інфекцією. Щоб змінити ситуацію на краще, потрібна системна робота на загальнодержавному та місцевому рівнях і гідна підтримка усього суспільства, а також розробка новітніх фармакологічних засобів задля запобігання генералізації запального процесу.

У основу класифікації ринітів покладено патогенетичний принцип [39, 92]. Етіологічними факторами риніту, найімовірніше, можуть бути інфекційне ураження (бактеріальне або вірусне), алергічна реакція і порушення вегетативної іннервації слизової оболонки порожнини носа. Доцільно також було б виділити ще одну групу ринітів – як прояв системних захворювань (ендокринних – гормональний риніт, простагландинових порушень – неалергічний риніт з еозинофільним синдромом, і деякі інші форми, такі як нежить, гіпертрофічний і поліпозний риніти). Інфекційні риніти поділяються на банальні, етіологічним фактором яких є віруси, кокова флора, і інші, неспецифічні і специфічні

мікроорганізми. Слід зазначити, що порушення мікробіома слизової носа, що спричинено такими інфекційними збудниками може ініціювати в подальшому розвиток алергічного стану організму в цілому [62, 82].

У будь-якому випадку підґрунтям розвитку риніту є пошкодження тканини, а отже запалення. Запалення включає в себе розгалужені молекулярні реакції і клітинну активність, які призначені для відновлення тканини. Більш того, за допомогою типової запальної реакції спостерігається дисфункція тканин через протеолітичну активність та регенерацію нового гуморального продукування для росту клітин та реформування нової функціональної та сполучної тканини [60]. Запальний каскад запрограмований і стереотипний, і це єдиний виявлений механізм відновлення тканин після травми. Існує декілька досліджень, присвячених темі того, як імунна система (клітинний імунітет і антитіла) приводить до запальної реакції, і є додаткова величезна клінічна література про окремі стадії при запаленні [1, 42].

1.1.1. Патогенетичні особливості розвитку окислювального стресу при запаленні

Поряд зі змінами імунологічної відповіді на пошкодження слизової оболонки носових шляхів у тканині відбуваються комплексні зміни на клітинному, тканинному та організменому рівнях водночас. Саме пошкодження тканини сприймається рецепторами розпізнавання, такими як Toll-подібні рецептори (TLR), NOD-подібні рецептори (NLR) і рецептор для просунутих кінцевих продуктів глікації (RAGE). Ці рецептори активуються при зв'язуванні з молекулами, відомими як патогенно активовані молекулярні зразки [46, 47] та шляхом передачі сигналу активують фактори транскрипції, такі як ядерний фактор-κВ (NF-κB) та активізуючий протеїн-1 (AP-1). Ці фактори викликають експресію прозапального гену, чим забезпечують антимікробну функцію та стимулюють додаткові імунні клітини [115, 180]. Ядерний фактор-κВ (NF-κB) – регулює експресію генів прозапальних цитокінів, хемокінів, запальних ферментів, молекул адгезії, рецепторів та мікроРНК [145]. Коефіцієнт транскрипції NF-κB

може бути активований низкою різних стимулів, включаючи бактеріальні ліпополісахариди, вірусні агенти, фітогемагглютинін, цитокіни (фактор некрозу пухлини α та IL) та активатори протеїнкінази C (форболеві ефіри) [198]. Важливо відзначити, що активація NF- κ B включає окислювальний стрес або внутрішньоклітинний редокс-статус. Зокрема, було встановлено, що перекис водню (H_2O_2) активує NF- κ B, а антиоксиданти блокують його [118, 188]. Проте ця основна концепція активації та функціонування системи NF- κ B, очевидно, неповна і надто проста, тому що експресія генів, що опосередковують запальний процес, є не єдиним ефектом активації NF- κ B. Показано, що субодиниці NF- κ B також сприяють організованому кластеру генів, необхідному для розщеплення запалення та для полегшення окислювального стресу шляхом збільшення експресії антиоксидантних ензимів (MnSOD) [71, 88]. Система NF- κ B регулює очевидно суперечливі гени, є досить складною і поки що не є повністю зрозумілою. Так, недавні дослідження вказують на те, що коstimуляція TLR викликає окислювальний стрес з незбалансованою прозапальною та протизапальною цитокіновою продукцією [156]. Крім того, активація RAGE шляхом зв'язування з його лігандами (просунуті кінцеві продукти глікації, S100 / кальгрануліни) можуть призвести до стійкого запалення та окисного стресу [133, 204].

Критичною складовою запалення є інфільтрація запальними клітинами, такими як нейтрофіли, моноцити та лімфоцити, місця стимуляції. При цьому такі активізовані запальні клітини вивільняють багато ферментів (нейтральні протеази, еластази, колагенази, кислотні гідролази, фосфатази, ліпази тощо), реактивні види (супероксид, перекис водню, гідроксильні радикали, гіпохлорова кислота тощо), і хімічні медіатори (ейкозаноїди, компоненти комплементу, цитокіни (TNF- α , IL-1 β та IL -6), хемокіни (молекула хемокіну CM-ліганд 2 і молекула хемокіну-мотива ліганду 8), PGE2, оксид азоту тощо) і, таким чином, індукують пошкодження тканини та окислювальний стрес [203]. Класичний шлях доповнення ініційований виробництвом антитіл природними антитілами, C-реактивним білком або амілоїдним білком сироватки [71, 202].

Ефективна гостра запальна реакція призводить до видалення інфекційних факторів, за якими відбувається стадія репарації та розв'язання, опосередкована через макрофагів, що реєструють тканину [77]. Зміна ліпідних маркерів від прозапальних простагландинів до ліпоксинів, які мають протизапальні ефекти, є життєво важливими для змін від запалення до розв'язання. На цьому етапі ліпоксини знижують роль нейтрофілів і, в свою чергу, активізують роль моноцитів, які усувають мертві клітини та ремоделювання пухлинних тканин [117].

Запалення є важливою реакцією імунної системи людини. Тим не менше, стан хронічного запалення може мати кілька вторинних наслідків у біологічній відповіді, пов'язані з підвищеним ризиком хронічних захворювань і розладів [85].

При запальній реакції лейкоцити і тучні клітини присутні у зонах пошкодження, які призводять до «дихальної пастки» в результаті посилення поглинання кисню, а отже, посилюють вироблення та вивільнення АФК у пошкодженій зоні [87]. Проте, запальні клітини генерують більш розчинні медіатори запалення, такі як цитокіни, арахідонові кислоти та хемокіни, які діють через активні запальні клітини в зоні інфікування та вивільнення більш реактивних видів. Ці істотні маркери можуть стимулювати каскади сигнальної трансдукції на додаток до змін факторів транскрипції, таких як ядерний фактор каппа В (NF- κ B), перетворювач сигналу та активатор транскрипції 3, активатор-білок-1, фактор-фактор-2 з NF-E2, ядерний фактор активізованих T-клітин та індукованого гіпоксією фактора-1 α (HIF1- α), які посередники життєво важливих клітинних стресових реакцій. Ініціювання циклооксигенази-2 (ЦОГ-2), індукційності синтази азотного оксиду (iNOS) та високої експресії запальних цитокінів, у тому числі фактора некрозу пухлини- α (TNF- α), інтерлейкіну-1 β (IL-1 β), IL-6, а також хемокінів (СХС-рецептор хемокіну 4), крім змін у експресії специфічних мікроРНК, також демонстрували свою роль у запаленні, викликаному окислювальним стресом [89, 106, 138]. Це запальне / окисне середовище викликає нездорове коло, яке може спричинити шкоду здоровим

стромальним клітинам та сусіднім епітеліальним клітинам, які через тривалий час можуть викликати канцерогенез [26, 170, 193, 198].

Запалення та окислювальний стрес пов'язані з низкою хронічних захворювань, включаючи діабет та діабетичні ускладнення, гіпертонічну хворобу та серцево-судинні захворювання, нейродегенеративні захворювання, алкогольне захворювання печінки, хронічне захворювання нирок, рак та старіння [191, 192]. Не викликає сумніву, що хронічний низьокласний запальний процес відіграє центральну роль у патогенезі багатьох хронічних захворювань [79]. Проте епідеміологічні та експериментальні дослідження настійно вказують на внесок окисного стресу в багатьох захворюваннях людини [7]. Величезна кількість дослідників по всьому світу досліджували, чи здатні антиоксиданти запобігати таким хворобам, як серцево-судинні захворювання, рак, діабетичні ускладнення, хвороба Альцгеймера та ін. [113, 191]. Проте результати цих антиоксидантних досліджень значною мірою розчаровують у пацієнтів людини; хоча деякі випробування показують корисні наслідки для здоров'я, інші демонструють або ефект, і навіть шкідливий ефект [118]. Таким чином, результати антиоксидантних досліджень викликали велику невизначеність щодо ролі окислювального стресу в патогенезі хвороб людини. Незважаючи на те, що було запропоновано кілька пояснень для уточнення цього розбіжності між результатами клінічних випробувань та епідеміологічними / експериментальними дослідженнями, воно з'явилося як нова загадка медичної науки і відома як антиоксидантний парадокс [127].

Запальні клітини вивільняють ряд реактивних видів на місці запалення, що призводить до перебільшення окисного стресу [71]. З іншого боку, ряд реактивних видів кисню / азоту може ініціювати внутрішньоклітинний каскад сигналізації, що посилює експресію прозапального гену [151]. Таким чином, запалення та окислювальний стрес є тісно пов'язаними патофізіологічними явищами, які тісно пов'язані між собою. Фактично, експериментальні дані свідчать про одночасне існування низьокласного хронічного запалення та окисного стресу у багатьох хронічних захворюваннях, таких як діабетичні

ускладнення, серцево-судинні та нейродегенеративні захворювання, алкогольне захворювання печінки та хронічне захворювання нирок [97, 140]. Отже, нездатність відбирати агенти, які специфічно спрямовані як на запалення, так і на окисне стрес або невикористання одночасно як антиоксидантних, так і протизапальних агентів або використання неселективних засобів, які блокують деякі окислювальні та / або запальні шляхи, але перебільшують інші, можуть бути відповідальними за невдачі антиоксидантних клінічних випробувань. Ця ідея спонукала нас переглянути основні аспекти окислювального стресу та запалення та їх взаємозв'язок і залежність.

Хімічно окиснення визначається як видалення електронів [60]. Термін «прооксидант» не визначений; як правило, вважається, що прооксидант – це будь-яка речовина, яка може генерувати реактивні види або здатні викликати окисне стрес. Проте антиоксидант визначається як будь-яка субстанція, яка при наявності в малих концентраціях порівняно з окисним субстратом значно затримує або запобігає окисненню цього субстрату [61]. Оксидативний стрес умовно визначається як дисбаланс між прооксидантним стресом та антиоксидантним захистом. Проте останні дані показують, що порушення сигналів редокс-сигналу є важливим аспектом окисного стресу, іноді більш важливим, ніж прооксидант-антиоксидантний дисбаланс або пошкодження тканин, викликані таким дисбалансом [63, 144]. Тому було запропоновано нове визначення окислювального стресу як «дисбаланс між окислювачами та антиоксидантами на користь окислювачів, що призводить до зриву редокс-сигналізації та контролю і / або молекулярного пошкодження» [154]. Наслідки окислювального стресу можуть бути дуже тонкими до дуже серйозних (в тому числі окисного пошкодження біомолекул, порушення сигнальної трансдукції, мутації та загибелі клітин) в залежності від балансу між генерацією реактивних видів та антиоксидантним захистом [94].

Існує три різних класу реактивних видів, що мають відношення до біології та медицини. Вони (а) є активними формами кисню (АФК), (б) реактивними формами азоту і (в) реактивними формами хлору. Окислювальна тканинна

травма, що виникає внаслідок їх дії приводить до окислювального та нітрозативного стресу. Такі ланцюгові реакції приводять до ДНК ланцюгової поломки. Недосконалий ремонт такого пошкодження ДНК може призвести до мутацій, порушення клітинного росту або апоптозу [126]. $\text{OH} \cdot$ радикал також може ініціювати ланцюгову реакцію, реагуючи з ліпідами мембран, що приводить до перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). Загальний ефект перекисного окиснення ліпідів полягає у зменшенні плинності мембрани, збільшенні витоку мембрани та пошкодженні білків мембран, тим самим інактивуючи рецептори, ферменти та іонні канали [176].

Для мінімізації окислювального пошкодження існують антиоксидантні системи. Ферментативні антиоксиданти, такі як супероксиддисмутаза (СОД), каталаза та глутатіон пероксидаза, а також неензиматичні антиоксиданти, такі як вітаміни С і Е, глутатіон (редукована форма, GSH) і бета-каротин, забезпечують основний захист від окисного стресу шляхом нейтралізації чи видалення реактивних видів або розриву ланцюгових реакцій [165]. Крім того, трансферрин, церулоплазмін та альбумін також відіграють роль антиоксидантів, поєднавши іони перехідних металів, наприклад, залізо та мідь, оскільки іони металів швидко реагують з H_2O_2 , щоб отримати високотоксичний гідроксильний радикал ($\text{OH} \cdot$) за реакцією Фентона [179]. Таким чином, важливою ознакою вільнорадикальних опосередкованих реакцій є те, що вони, як правило, протікають як ланцюгова реакція [158].

Проте реактивні види не завжди шкідливі. Вони допомагають фагоцитам вбивати мікроорганізми та модулювати сигнальні події регуляцією окиснення (редукції та окиснення) і тим самим впливають на фосфорилування та дефосфорилування ферментів та факторів транскрипції [144]. Фактично, у своїй недавній гіпотезі Уотсон постулював, що діабет, деменції, серцево-судинні захворювання та деякі види раку прискорюються або навіть виникають через нездатність генерувати достатньо АФК [147]. Підтверджуючи цю гіпотезу, недавні дослідження показали, що недостатній рівень АФК, через нездатність індукувати апоптоз, сприяє виживанню злоякісних клітин і тим самим сприяє

незнищенному росту пухлин [193]. Таким чином, АФК мають очевидні корисні наслідки для здоров'я, принаймні в деяких ситуаціях.

Аналогічно антиоксиданти також можуть бути спричиняти позитивний або негативний вплив в залежності від ситуації. Наприклад, на ранній стадії антиоксиданти мають позитивний вплив на перебіг запалення, оскільки можуть пригнічувати пошкодження ДНК і злоякісне перетворення клітин, що піддаються дії канцерогенів [33, 193]. Проте в трансформованих клітинах або в ракових клітинах антиоксиданти спричиняють негативний вплив за рахунок зниження АФК і, таким чином, інгібують АФК-індукований апоптоз генетично пошкоджених клітин, що приводить до збільшення виживання, проліферації та канцерогенезу клітин [89, 93].

У нормальному та здоровому стані організму існує баланс між формуванням активних форм кисню / вільнорадикальних та ендогенних антиоксидантних механізмів захисту. Однак, якщо рівновагу порушено, це може призвести до окисного стресу та пов'язаного з ним пошкодження. Цей стан окислювального стресу може викликати пошкодження всіх життєво важливих клітинних компонентів, таких як ДНК, білки та мембранні ліпіди, і це може призвести до загибелі клітин [61]. Як результат, це може спричинити численні захворювання, що включають діабет, серцево-судинні захворювання, запалення, рак, дегенеративні захворювання, ішемію та анемію [113, 191, 192].

Численні дослідження підтверджують взаємозалежність між запаленням та окисним стресом [89]. Так, під час запального процесу активізовані фагоцитарні клітини: такі як нейтрофіли та макрофаги, виробляють надлишкову кількість АФК, реактивних азоту та хлору, включаючи супероксид, перекис водню, оксид азоту, пероксинітрит та інші для знешкодження етіологічних чинників [105]. При патологічних запальних процесах можливе перебільшення генерації реактивних видів, і деякі з цих реактивних видів дифундують поза фагоцитарними клітинами і, таким чином, можуть викликати локалізований окисний стрес і пошкодження тканин [109]. Проте крім безпосередньої генерації реакційноздатних видів фагоцитарними клітинами, нефагоцитарні клітини можуть також продукувати

реактивні види у відповідь на прозапальні цитокіни [24, 33, 171]. Встановлено, що прозапальний цитокіновий інтерферон- γ та прозапальний компонент ліпополісахариду бактеріальної клітинної стінки синергічно збільшують генерацію АФК у клітинних лініях раку підшлункової залози людини через TLR-4-NF- κ B-залежну експресію Duox2, члена NADPH-оксидазної сім'ї [113, 126]. Нещодавні знахідки також показали, що коstimуляція TLR викликає окисний стрес з незбалансованим виробництвом прозапальних та протизапальних цитокінів, як зазначено вище [61, 175]. Крім того, було встановлено, що запальний цитокін IL-6 продукує АФК за рахунок збільшення експресії NADPH оксидази 4 (NOX4) у недрібноклітинному раку легень [77, 107, 188].

Оскільки запальний процес може викликати окисне стрес, окислювальний стрес також може викликати запалення через активацію багатьох шляхів. Реакційноздатний вид пероксиду водню може викликати запалення шляхом активації транскрипційного фактора NF- κ B [188]. Крім того, окислювальний стрес відіграє важливу роль в активації запалення NOD-подібного рецепторного білка 3 (NLRP3) [186], який є олігомерним молекулярним комплексом, що активує імунний захист через дозрівання прозапальних цитокінів, таких як IL-1 β та IL-18 [33, 138]. Реконструкція базового вилучення окисно-пошкодженої / модифікованої основи ДНК (7,8-дигідро-8-оксогуанін) 8-оксогуанін-ДНК-глюоксалазою-1 індукує каскад сигналізації, який завершується активацією шляху NF- κ B, що приводить до прозапальної експресії генів і накопичення запальних клітин [196, 202]. Встановлено, що 8-ізопростан, кінцевий продукт арахідонової кислоти, що належить до F2-ізопростанів та маркер окислювального стресу, збільшує експресію запального хемокіну IL-8 у макрофагах людини шляхом активації мітоген-активованих протеїнкіназ [71, 195]. Крім того, було показано, що оксидативне напруження, викликане окисненням позаклітинного окисно-відновного потенціалу цистеїну плазми (Cys) та його дисульфідного цистину (CySS), викликає прилипання моноцитів до ендотеліальних клітин судин, активує NF- κ B і збільшує експресію прозапального цитокіну IL-1 β [72, 110]. Наведене

вище обговорення вказує на те, що запалення та окислювальний стрес тісно пов'язані між собою та є взаємозалежними патофізіологічними процесами.

Точна причина нездатності антиоксидантів позитивно впливати на перебіг захворювання людини, яка пов'язана з окисним стресом, ще не зрозуміла; проте було запропоновано кілька пояснень [113]. Одне теоретичне пояснення полягає в тому, що зв'язок окислювального стресу з різними захворюваннями людини, ймовірно, не є остаточно установленим, а тому антиоксиданти неефективні [81, 82, 127]. Проте такий аргумент не є серйозним, оскільки існує величезна кількість досліджень, що показують внесок окислювального стресу в такі хвороби, як рак і нейродегенеративні захворювання [126, 194]. Ще одне пояснення полягає в тому, що тип і доза антиоксидантів, використовуваних у клінічних випробуваннях, можливо, не зменшили ступінь окисного стресу на цільовій ділянці і, отже, не давали ніякого ефекту або спричинили шкідливі ефекти [88, 118]. Наприклад, вітамін Е як антиоксидант діє в мембрані, а вітамін С діє в позаклітинному та внутрішньоклітинному водному середовищі; і як надвисокі, так і знижені дози вітаміну С будуть пов'язані з вільнорадикальним ушкодженням ДНК [89, 108, 181]. Крім того, нездатність антиоксидантів приносити корисні наслідки для здоров'я може бути результатом того факту, що антиоксиданти можуть створювати шкідливі наслідки в деяких ситуаціях, наприклад, при наявності раку, коли достатня кількість АФК необхідна для індукування апоптозу злоякісних клітин, як обговорювалося вище [71, 183]. Третім поясненням є те, що відсутність відповідного методу кількісного визначення окисно-відновного статусу зробило багато клінічних випробувань необтяжливим, що не означає неефективність антиоксидантів [42, 118]. Фактично, метод кількісного визначення окисно-відновного статусу у людини далекий від ідеалу, і багато разів у клінічних випробуваннях окислювально-активний стан не вимірювався перед початком і після закінчення антиоксидантної терапії [120, 144]. Проте, навіть вимірювання одного або кількох про- та антиоксидантних маркерів може не забезпечити комплексну міру редокс-статусу цільового органу чи тканини [40].

1.1.2. Імунологічні механізми слизової оболонки при запаленні

Більшість антигенів надходять в організм через поверхню слизових оболонок, покритих слизом та антимікробними продуктами, і збагаченими як вродженими, так і адаптивними компонентами захисту організму. Складна мережа вроджених та імунних клітин і їх медіаторів функціонує як єдине ціле, щоб захистити організм від токсичних елементів та інфекційних агентів, які можуть проникати в організм через слизові оболонки. Ця велика мережа ефективно функціонує за допомогою клітинного епітелію, підепітеліального шару клітин та лімфоїдних тканин, які захищають цілісність слизової оболонки [150, 152].

Показано, що слизові шлунково-кишкового, бронхіального і назофарінгеального трактів містять лімфоїдні скупчення, які отримали назву мукозоасоційована лімфоїдна тканина (MALT – mucosa-associated lymphoid tissue). В рамках цих лімфоїдних скупчень імунну відповідь реалізують представники імунної системи: Т- і В-клітини, їх популяції і субпопуляції, а також гуморальні фактори, які забезпечують реалізацію імунної відповіді на території лімфоїдної тканини слизових оболонок [42, 107]. Імунна система слизових оболонок, так само як і інтегральна імунна система, ділиться на неспецифічний імунітет і набутий (специфічний або адаптивний) імунітет, які формуються в процесі життя чи є вродженими. Основна функція місцевої несприйнятливості – це підтримання гомеостазу внутрішнього середовища організму [105].

До клітинних імунних неспецифічних захисних чинників належить функція макро- і мікрофагоцитів (моноцити/макрофаги та нейтрофіли), натуральних кілерних (NK) клітин, антигенпрезентуючих клітин (дендритні клітини та макрофаги), а до гуморальних – антибактеріальні та антивірусні речовини зовнішніх секретів: лактоферрин, лізоцим, інтерферони, дефензини, кателіцидини, лектини, цитокіни тощо [114, 199].

Другу групу показників місцевої несприйнятливості складають фактори, що визначають особливості місцевого специфічного імунітету. Специфічний імунітет також забезпечується клітинним, гуморальним і секреторним субстратами.

Клітинну основу специфічного місцевого імунітету складають Т- і В-лімфоцити, цитокіни, що секретуються цими видами клітин, а гуморальну – секреторні антитіла, а саме імуноглобуліни (Ig) типу А, М, G. Захист антитілами слизової оболонки залежить від складної взаємодії між місцевими В-клітинами та секреторним епітелієм [8, 187].

Компетентні імунні клітини, такі як природні кілери (NK-клітини) та внутрішньоепітеліальні лімфоцити, здійснюють ліквідацію чужорідних антигенів. Популяцію NK-клітини становлять великі зернисті лімфоцити, вони забезпечують елімінацію пухлинних клітин, а також клітин, інфікованих вірусами і деякими бактеріями і найпростішими [3]. На відміну від цитотоксичних Т-лімфоцитів, здатність NK-клітин до цитолізу пов'язана з самостійним розпізнаванням «своє-чуже» на поверхні мішені. NK-клітини знищують клітину-мішень після встановлення з нею прямого контакту за допомогою спеціальних білків – перфоринів, які вбудовуються в мембрану чужорідної або трансформованої клітини, утворюючи в ній «діру», що приводить до осмотичного лізису. Активність NK-клітин регулюють цитокіни (IFN -гамма і IL-2 підсилюють їх цитолітичну активність) [1, 190]. Поряд з макрофагами, нейтрофілами і еозинофілами, вони також беруть участь в антитілозалежному клітинно-опосередкованому цитолізі. Після захоплення антигену антигенпрезентуючими клітинами (дендритні клітини, макрофаги), що перебувають у епітелії, потім мігрують у MALT та ініціюють адаптивні імунні реакції, індукуючи проліферацію та диференціювання Т-клітин [124, 138].

Слизова оболонка – це середовище, багате цитокінами, де епітеліальні клітини, макрофаги, дендритні клітини та Т-клітини продукують різні типи цитокінів, такі як трансформуючий фактор росту (TGF) - β , інтерлейкіни (IL) (IL - 6, IL-10, IL -12 тощо) та ін. Наприклад, TGF- β стимулює вироблення антитіл IgA, що сприяє цілісності імунітету слизової оболонки. Крім того, TGF- β , яким багате слизове середовище, відіграє вирішальну роль у диференціюванні Т-клітин, зокрема Т-регуляторних лімфоцитів, що є важливим для підтримки імунного

балансу в слизовій оболонці. Це дозволяє обмежувати патологічний процес рамками слизової оболонки [59, 135, 137].

Підраховано, що в сукупності гуморальна ланка слизових оболонок сьогодні налічує понад 700 представників, в цілому вони мають величезний захисний потенціал. Гуморальні фактори мають активність проти широкого кола збудників. Дефензини мають прямий антимікробний ефект, а також модулюють вроджені та адаптивні імунні реакції. Людські бета-дефензини (hBD) та захисні речовини людини 5 і 6 (human defensins – HD5 та -6) найчастіше беруть участь у реакціях слизової оболонки, оскільки вони виробляються переважно епітеліальними клітинами. Людські альфа-дефензини 1-4 (або HNPs 1-4) виробляються переважно нейтрофілами, залученими до слизової оболонки [115, 118, 149].

Сльози і секрети, що виділяються слизовими, слинними і травними залозами, не тільки змивають мікроорганізми з поверхні слизових оболонок, але і надають бактерицидну дію, обумовлену ферментами, що містяться в них, зокрема, лізоцимом. Лізоцим є термостабільним білком типу муколітичного ферменту. Лізоцим розщеплює муреїн, який входить до складу клітинної стінки бактерій, що і призводить до лізису мікроорганізмів. Лізоцим продукується епітелієм порожнини носа, нейтрофілами, моноцитами/макрофагами. Він викликає лізис багатьох сапрофітних бактерій, чинячи менш виражену літичну дію на ряд патогенних мікроорганізмів і є неактивний по відношенню до вірусів [3, 114]. Лізоцим розщеплює муреїн, який входить до складу клітинної стінки бактерій, що і призводить до лізису мікроорганізмів. Загоєння ран в області слизових оболонок, що мають контакт із великою кількістю різних мікроорганізмів, у тому числі і патогенних, до певної міри пояснюється наявністю лізоциму [10, 42].

Запальні захворювання органів слизової оболонки суттєво впливають на мікросередовище, в якому вони перебувають. Цитокіни, знайдені в цьому мікросередовищі, значно сприяють комунікації клітин [4, 64, 150]. Дослідження, проведені у 2000-х роках, показали, що епітеліальні клітини є як джерелом, так і

мішенню для численних цитокінів, і що така сигналізація та кооперація може суттєво вплинути на результат захворювання слизової оболонки [11, 144, 155].

Важливими цитокінами є інтерферони (IFN). Система інтерферонів - важливий фактор неспецифічної резистентності організму. Виділяють 4 типи ІФН - α , β , γ , ω :

- α - IFN (IFN-альфа, лейкоцитарний IFN) виробляється переважно В-клітинами, а також Т-лімфоцитами, НК-клітинами та макрофагами при вірусній інфекції;

- β - IFN (IFN-бета, IFN фібробластів) виробляється фібробластами при тих же станах, що і α -IF;

- γ - IFN (IFN – гамма, імунний IFN) виробляється НК-клітинами та активізованими антигенами або мітогенами Т-лімфоцитами.

Найважливіші їх функції IFN: антивірусна, протипухлинна, імуномодуюча та радіопротективна. При вірусній інфекції клітини синтезують IFN-альфа і IFN-бета і секретують його у міжклітинний простір, де він зв'язується зі специфічними рецепторами сусідніх незаражених клітин. Кінцевий результат складається з утворення бар'єру зі стійких до вірусу неінфікованих клітин навколо вогнища інфекції, щоб обмежити її поширення [101-103, 187].

IFN-гамма виділяють деякі активовані Т-лімфоцити і НК-клітини. Його продукція не індукується безпосередньо вірусами. IFN-гамма служить найбільш сильним активатором макрофагів і індуктором експресії молекул МНС класу II клітинами тканин. Здійснюючи ці та інші функції IFN-гамма діє синергічно з факторами некрозу пухлин (ФНП)-альфа і ФНП-бета [42, 104].

Таким чином, в рамках MALT слизові шлунково-кишкового, бронхіального і назо-фарінгеального трактів, цих лімфоїдних скупчень, імунну відповідь реалізують представники імунної системи: Т- і В-клітини, їх популяції і субпопуляції, забезпечуючи реалізацію імунної відповіді на території лімфоїдної тканини слизових оболонок. Слизові оболонки мають загальну поверхню понад 400 м² (тоді як шкіра – 1,8 м²), а їх імунна система розділена на дві зони: індуктивну і ефекторну. У індуктивній зоні відбуваються процеси імунологічного

розпізнавання, презентації антигену і формується популяція антигенспецифічних лімфоїдних клітин [12, 120]. У ефекторній зоні продукується секреторний IgA і накопичуються ефекторні Т-лімфоцити, що забезпечують клітинно-опосередковані форми захисту поверхні слизистих оболонок [122].

Залежно від місця проникнення в організм, антиген розпізнається в індуктивній зоні відповідної ділянки імунної системи слизової (шлунково-кишкового, бронхіального і назо-фарінгеального трактів). Т- і В-лімфоцити, яким було презентовано антиген, мігрують в регіонарний лімфатичний вузол, де ініціюють проліферацію антигенспецифічних Т- і В-лімфоцитів, які потім через грудну лімфатичну протоку повертаються в ефекторні зони загальної мукозальної імунної системи, де і реалізують свої захисні функції [99].

Мукозо-асоційована імунна система характеризується наступними ознаками:

- єдиними спеціалізованими епітеліальними клітинами для специфічного захоплення антигену, так званими М-клітинами.
- скупчення В-лімфоцитів, що нагадують за своєю структурою фолікул.
- наявністю інтрафолікулярних областей, де переважно розташовані Т-лімфоцити навколо високоендотеліальних венул (high endothelial venule).
- наявністю В-лімфоцитів – попередників IgA-секретуючих плазматичних клітин, які знаходяться на території фолікулів.
- спроможністю попередників IgA-продукуючих клітин мігрувати через лімфу в регіональні лімфатичні вузли і далі поширюватися по lamina propria всіх органів, що мають слизову оболонку [21, 50, 99].

У той же час, були описали властивості, характерні для різних слизових, зокрема, лімфоїдної тканини, асоційованої з носоглоткою (NALT – nasal-associated lymphoid tissue). Так, було показано, що Т-лімфоцити, взяті з NALT, відмиті і повернені міченими в організм тварин, поверталися саме в «свою» зону, а не в іншу слизову, наприклад, шлунково-кишкового тракту чи бронхо-легеневу, що вказує на специфічність цих асоційованих із NALT клітин [48, 59].

Назально-асоційована лімфоїдна тканина є індукційною ділянкою слизової оболонки верхніх дихальних шляхів, яка важлива для розвитку імунітету слизової оболонки локально і дистально до інтраназально введених Аг. Місцевий імунітет слизової носа є початковою лінією захисту організму. Підслизова назальна, як і інша мукозо-асоційована імунна система, містить лімфоїдну інфільтрацію Т-хелперів, Т-супресорів і сукупність плазматичних клітин, здатних синтезувати IgG, IgM, IgA. Плазматичні клітини IgA є найбільш численними. Клітини епітелію порожнини носа здатні виробляти неспецифічні фактори захисту, зокрема, бактерицидні та бактеріостатичні речовини – лізоцим, лактоферин, інтерферони тощо, відіграючи значну роль у місцевому захисті [62]. Епітелій – це імунологічна сутність, яка, крім секреторних клітин, складається з мастоцитів (тканинних базофілів), лімфоцитів та макрофагів. Епітелій здатний синтезувати також секреторний компонент і дозволяє транспортувати сироваткові IgA і IgM у секрети [72].

Слизова оболонка носа, навколоносових пазух містять дві принципово різні популяції імуноцитів: в першій переважають клітини, що продукують IgA (містять J-ланцюг), і представлені в залозистих областях. У другій – IgG-продукуючі клітини, розташовані в стромі нижче поверхні епітелію. Перші беруть участь у формуванні секреторного компонента місцевого імунітету, другі здійснюють реакції імунного очищення (кліренсу) [92]. Секреторний IgA (sIgA) є основним імуноглобуліном секретів слизових носа. Полімерний sIgA здатний більш ефективно нейтралізувати віруси, бактеріальні токсини, ферменти і аглютинувати бактерії в порівнянні з мономерною формою [115, 196].

Виняткова важливість sIgA-антитіл в противірусному захисті обумовлена тим, що вони первинно присутні в місцях первинного контакту вірусу з епітеліальними клітинами слизових органів господаря. В даний час доведено, що sIgA-антитіла блокують адгезію мікроорганізмів до епітеліальних клітин слизових поверхонь. Цей механізм не є строго специфічним для IgA-антитіл. Ефект sIgA може залежати від ряду інших факторів, у тому числі, лактоферин,

лактопероксидаза, лізоцим, а також від стану нормальної мікрофлори, яка колонізує слизові поверхні [141, 150].

Інтерферони відіграють важливу роль в назальному імунітеті, активуючи міграцію нейтрофілів в слизову оболонку та пригнічуючи надходження в дихальні шляхи еозинофілів. Інтерферон-гамма є важливим цитокином Т-хелперів 1 типу (Th1), який сприяє диференціюванню наївних Т-клітин у клітини Th1 типу та посилює імунні реакції типу Th1. IFN-гама пригнічує проліферацію Th2-клітини, функція котрих пов'язана з імунними реакціями Th2 типу, які характеризуються високим рівнем ряду інтерлейкінів (IL-4, IL-5, IL-9 та IL-13). Ці цитокини організовують набір та активацію різних ефекторних клітин, таких як еозинофіли та тучні клітини (мастоцити), які разом із Th2-цитокинами є основними гравцями у розвитку алергічних запальних порушень дихальних шляхів, зокрема, і алергічних ринітів [155, 157]. Як уже було згадано вище, IFN-гамма синтезують не лише активовані Т-лімфоцити (Th1), а й НК-клітини. У свою чергу, виділений цими клітинами IFN-гамма безпосередньо активує функцію цих же клітин, тобто має аутокринну дію. Це є дуже важливим механізмом активації НК-клітин і вибіркового знищенні ними вірус-інфікованих, трансформованих чи апоптозних клітин. З огляду на це, імуномодельючі агенти можуть відігравати важливу роль у посиленні активності НК-клітин та стійкості до вірусної інфекції або раку слизової носу [152, 159].

Основна увага в публікаціях, присвячених з'ясуванню ролі місцевої несприйнятливості, приділена факторам специфічного імунітету, а саме вмісту різних класів імуноглобулінів в секретах MALT [100]. Що стосується дослідження стану імунологічної резистентності, як специфічної, так і вродженої, в секретах NALT у відповідь на хімічні чи біологічні чинники та за умов застосування лікарських препаратів місцевої дії, таких досліджень в літературі вкрай мало. Тому вивчення механізмів місцевого імунітету слизової носу, які в першу чергу включаються в захист організму від різних назальних антигенних впливів, дозволить не тільки більш повно представити патогенез захворювань, але і розробити раціональні методи терапії і профілактики [197, 200].

1.2. Загальні принципи лікування та антиоксидантна терапія ринітів

Всесвітня організація охорони здоров'я (ВООЗ) вважає, що 80% жителів світу користуються традиційною медициною для потреб їх первинної медико-санітарної допомоги, і більшість із цієї терапії вимагає використання екстрактів рослинного походження та їх активних компонентів. Біоактивні екстракти різних лікарських рослин та їх ідентифіковані / виділені активні компоненти показали різні лікарські фармакологічні властивості проти різних гострих та хронічних захворювань / розладів [60, 125, 173]. У даний час вплив окислювального стресу та пов'язаних з нею факторів стало важливою проблемою здоров'я людей [177]. Коли організм перебуває під великим навантаженням, генерація АФК посилюється (наприклад, гідроксильних радикалів, супероксидних аніонних радикалів та пероксиду водню) [98, 185]. Ендогенна ферментативна та неензиматична антиоксидантна система не здатна впоратися з перевантаженням АФК та може призвести до дисбалансу та пошкодження клітин [88]. Відсутність антиоксидантних сполук у щоденному раціоні може призвести до розвитку дегенеративних захворювань, таких як рак, серцево-судинні захворювання [113, 126], хвороба Альцгеймера, нейродегенеративні захворювання [89, 188] та різні запальні захворювання. Включення антиоксидантних сполук шляхом споживання природних джерел рослин у щоденному раціоні може бути підходящим рішенням для вирішення питань здоров'я людей. Ці природні джерела антиоксидантів можуть бути використані як профілактична медицина.

Численні дослідження показали, що флавоноїди та фенольний вміст сприяють антиоксидантній активності природних сполук [31]. Крім того, в інших дослідженнях також було повідомлено, що металеві мікроелементи, такі як Cu, Zn, Mg, Mn та Se, виконують значну роль в антиоксидантній системі [92, 184]. Крім того, досліджені дієтичні антиоксиданти, включаючи токофероли, каротиноїди та аскорбінову кислоту [36, 178]. Для компенсації окисного стресу було вироблено кілька синтетичних антиоксидантних добавок. Тим не менш, такі чинники, як відсутність наявності, висока вартість та побічні ефекти залишаються головною проблемою в боротьбі з окисним стресом. Наприклад, бутилірований

гідроксианізол та бутилірований гідрокситолуол широко використовувалися як синтетичний антиоксидант у харчовій промисловості і могли викликати побічні ефекти, такі як канцерогенез та пошкодження печінки [89]. На противагу синтетичним, природні антиоксиданти багаті на декілька рослинних джерел, вільних від побічних ефектів, і менш дорогі. Антиоксидантні речовини на основі природних сполук мають профілактичну роль у захисті від утворення вільних радикалів, і тому антиоксиданти на основі натуральних речовин є одним із найцінніших терапевтичних засобів для зниження хвороб, спричинених оксидативним стресом [93].

Крім того, флавоноїди та фенольні сполуки, що володіють антиоксидантною дією, також відіграють важливу роль як протизапальні фактори. Протизапальну дію природних сполук повідомляють у кількох дослідженнях і спостерігають у численних доклінічних дослідженнях [94, 95]. Результати протизапальних досліджень довели, що біологічно активні екстракти та їх природні сполуки надають свої біологічні властивості, блокуючи два основних сигнальні шляхи, такі як NF- κ B та мітоген-активізовані протеїнкінази (МАРК), які мають головну роль у генерації різних прозапальних посередників.

Наразі налічується близько 30 найбільш вивчених лікарських рослин та їх активних компонентів, що містять флавоноїди. Встановлено, що протизапальний потенціал забезпечується різними механізмами за рахунок пригнічування концентрації прозапальних цитокінів (IL-1 β і TNF- α) і підвищення рівню протизапальних цитокінів IL-10, тобто мають коригуючий вплив [127, 134].

1.2.1. Визначення ролі натуральних сполук як засобів з антиоксидантною та протизапальною активністю

Сучасна фармакологічна індустрія пропонує використання як синтетичних так і природних сполук в якості активної діючої речовини. Проте безперечно перевага надається лікарським рослинам, що з давніх часів залишаються основними джерелами отримання субстанцій для лікувальних засобів при різноманітних захворюваннях [116].

Їх здатність природно нормалізувати метаболізм пошкодженої тканини є вагомою перевагою в виборі застосування лікарських рослин природного походження над синтетичними молекулами. Окрім того, такі молекули майже не викликають ускладнень, за виключенням поодиноких випадків алергійних проявів, є нетоксичними, та мають цілий спектр необхідних фармакологічних ефектів. Виходячи з цього, їх можна призначати для тривалого застосування як для лікування так і для профілактики багатьох захворювань, та зокрема, ринітів [95, 116, 119].

Антиоксиданти поділяються на жиророзчинні та водорозчинні, біологічного та синтетичного походження. До жиророзчинних антиоксидантів належать токоферолі, убіхінони (коензим Q), вітаміни К та Р, білірубін, білівердин, фосфоліпіди та деякі стероїдні гормони. Серед водорозчинних антиоксидантів – тіосульфат натрію, нуклеофільні сполуки, сечовина, глутатіон, цистеїн, аскорбінова, лимонна та нікотинові кислоти, оксипиридини, нуклеофільні сполуки. Наразі близько 1/3 лікарських препаратів отримують із рослин, а фітопрепарати застосовують в медичній практиці як фонову, так і реконвалесцентну терапію [70, 116, 178].

Для фармакологічної корекції широко використовуються синтетичні антиоксиданти: барбітурати, бетамеркалтоетиламін, феноли, органічні сполуки сірки та інші [78, 142]. Наприклад, біологічний оксидант токоферол взаємодіє з продуктами або каталізаторами вільнорадикального окиснення, такими як гідроперекиси та активні радикали, і блокує каталізатори вільнорадикального окиснення – іони металів змінної валентності [167].

Основний механізм дії антиоксидантного захисту організму забезпечується дією специфічної ферментативної або неферментативної АОЗ та полягає в зниженні рівня АФК та утворення радикалів унаслідок розриву ланцюгів вільнорадикальних реакцій та зв'язування металів змінної валентності (мідь, залізо) з трансферином і лактоферином, що перешкоджає їх участі у вільнорадикальних реакціях. Дія неспецифічної АОЗ полягає в запобіганні утворення АФК [36, 65]. Білок церулоплазмін відіграє важливу роль в антиоксидантній активності сироватки крові, зв'язує та переносить іони міді, які

мають прооксидантну активність, окислюючи двовалентне залізо до тривалентного, яке надалі зв'язується трансферином і переноситься в клітини кісткового мозку та в інші тканини. Тривалентне залізо, зв'язане з трансферином та феритином, не бере участі в реакціях, які призводять до утворення вільних радикалів [42, 43].

У медичній практиці пропонується застосовувати для фармакологічної корекції ступеню запалення слизової оболонки носових шляхів лікарські препарати з різних груп та форм застосування. Така терапія є патогенетичною та містить такі принципи:

- боротьба з місцевою патологічною мікрофлорою;
- зволоження слизової оболонки носа;
- стимулювання місцевого та загального кровообігу;
- корекція місцевого імунологічного стану [131, 169, 172].

Згідно АТС-класифікації (безрецептурного відпуску) усі препарати для лікування захворювань ВДШ поділяються на [39, 79]:

R01 Засоби, які використовуються при захворюваннях порожнини носа;

R01A Протинабрякові та інші препарати для місцевого застосування при захворюваннях порожнини носа;

R01A A Симпатоміметики, прості препарати

R01A B Симпатоміметики в комбінації з іншими засобами (за винятком кортикостероїдів)

R01A C Протиалергійні засоби

R01A D Кортикостероїди

R01A X Інші засоби для лікування захворювань порожнини носа

R07A X Інші засоби, що діють на респіраторну систему

Сучасний перелік лікарських засобів, найбільш розповсюджених та найбільш вживаних та ефективних включає: бальзам «Зірка» (В'єтнам) з комплексом олій: гвоздична, корична, евкаліптова, м'ятна з вираженою місцевоподразнюючою, відволікаючою, протизапальною, анальгезуючою активністю; мазь «доктор Мом» (Індія): ментол, камфора, тимол, олія скипидарна,

олія евкаліптова, олія мускатна з подразнюючою, відволікаючою, протизапальною, антисептичною діями; мазь «Бороментол» (Україна): ментол, борна кислота з болезаспокійливою дією; мазь «Комбігрип» (Індія): ментол, камфора, тимол, метилсаліцилат, з анальгезуючою, антисептичною, протисвербіжною, заспокійливою, відволікаючою діями; мазь «Пульмекс бебі» (Швейцарія): олія розмарину, листя евкаліпту прутівідного, перуанський бальзам, з відхаркувальною, антисептичною, протизапальною діями; мазь «Евкаліптовий бальзам від застуди Др Тайсса» (Німеччина): олія евкаліптова, хвої соснової, камфора з відхаркувальною дією; гель «Бронхікум бальзам з евкаліптовою олією» (США-Франція): олія евкаліптова, хвойна, камфора відхаркувальною, муколітичною, антимікробною, протизапальною діями; гель «Ментоклар» (Словенія): ефірна олія евкаліпту та скипидару, перцева м'ята, чебрець, кедр, камфора, ментол з антисептичною, протизапальною, спазмолітичною, відволікаючою діями; Мазь «Віферон» (Росія): інтерферон альфа-2 людський рекомбінантний 40000 МЕ з протівірусною, імуномодельною діями; Мазь «Вікс Актив Бальзам з ментолом та евкаліптом» Німеччина): левоментол, камфора, олія евкаліптова, олія терпентинова, з відхаркувальною, антисептичною діями; мазь «Оксолинова мазь» (Росія): диоксотетрагідрокситетрагідронафталін з протівірусною дією; бальзам «Золота зірка» (В'єтнам): ментол, камфора, олія м'ятна, олія гвоздична, олія кориці, олія волошки з протизапальною, місцево зігріваючою, антисептичною, анестезуючою діями; мазь «Бактробан» (Великобританія): «Мупіроцин» антибактеріальною, бактерицидною діям [25]; мазь «Піносол» (Словацька республіка): соснова олія, евкаліптова олія, ментол, тимол, токоферолу ацетат стимулює рецептори слизових оболонок [23]; мазь «Евкабал» бальзам (Германія): олія евкаліптова, олія хвойна з протизапальною дією [86, 90, 91, 116, 166].

Проведений аналіз дозволяє зрозуміти, що більшість препаратів представлено м'якими назальними засобами імпортного виробництва з комплексною дією [132, 146, 163]. До їх складу входять ефірні олії з широкою фармакологічною активністю, серед якої протизапальна посідає одне з перших

місць. Серед них окремо необхідно виділити гель «Піносол», який на перевагу від інших назальних засобів м'якої форми має лікувальні протизапальні та антиоксидантні властивості, а не лише зменшенням набрякості та закладеності носа [111, 112, 161]. До його складу входять олія соснова та евкаліптова, ментол, тимол та токоферола ацетат.

Можна припустити, що саме завдяки ефірним оліям забезпечується лікувальний ефект, тому що вони мають ряд певних переваг:

1. Мають здатність спричиняти виражену зволожуючу та антисептичну дію завдяки високій концентрації легких активних сполук та дозволяє пригнічувати бактерії і віруси [123, 128, 1621].

2. Відносяться до класу практично нетоксичних речовин, тому безпечні для широкого споживача [129, 139, 148, 201].

3. Мають ряд фармакологічної активності, яка корисна при простудних захворюваннях: імуномодельючу (ромашка, розмарин і т. д.), антиоксидантну, седативну та релаксуючу (валеріана, лаванда і т. д.), відхаркувальну (аніс, подорожник і т. д.), спазмолітичну (меліса, коріандр і т. д.) [130, 136, 143, 160].

Отже, можна зробити висновок, створення вітчизняної лікарської м'якої форми, з лікувальними протизапальними, антиоксидантними властивостями та пролонгованою ефективністю залишається наразі актуальною проблемою для лікування риніту.

Висновки для розділу 1

1. Розглянуті сучасні уявлення про етіологічні та патогенетичні особливості перебігу риніту. Відмічено, що вивчення механізмів місцевого імунітету слизової носу в секретах NALT за параметрами стану імунологічної резистентності, як специфічної, так і вродженої, у відповідь на хімічні чи біологічні чинники та за умов застосування лікарських препаратів місцевої дії, дозволить більш повно представити патогенез захворювань і розробити раціональні методи терапії і профілактики.

2. Встановлено на підставі літературних джерел, що поряд зі змінами імунологічної відповіді на пошкодження слизової оболонки носових шляхів у

тканині відбуваються комплексні зміни на клітинному, тканинному та організменному рівнях: запалення та окисний стрес. Доведено їх взаємозалежність як одних з основних патофізіологічних процесів.

3. Розглянуті питання щодо ролі антиоксидантної системи на перебіг пошкодження тканини та вплив на її активність антиоксидантних речовин на основі природних сполук. Наголошено, що антиоксиданти на основі натуральних речовин є одним із найцінніших терапевтичних засобів для зниження хвороб, спричинених оксидативним стресом.

4. Доведено недостатність на ринку вітчизняних місцевих лікарських засобів з комплексною дією для лікування ринітів. Перспективними компонентами для розробки такого засобу є ефірні олії з комплексом фармакологічної активності, насамперед, протизапальною та антиоксидантною.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Досліди проведені на 208 безпородних щурах-самцях масою тіла 180-220 г. Розподіл тварин за серіями експерименту наведено в таблиці 2.1.

Таблиця 2.1

Розподіл тварин за серіями експерименту відповідно до завдань дослідження

№	Назва серії	К-ть тварин	Об'єкти дослідження	Показники
1	2	3	4	5
1	Визначення показників ПОЛ та АОЗ при хімічному риніті	40 щурів	Інтраназальні змиви	ДК, ТБК-продукти, Кат, ВГ
2	Визначення показників ПОЛ та АОЗ при хімічному риніті		Сироватка крові	ДК, ТБК-продукти, Кат, ВГ
3	Визначення показників ПОЛ та АОЗ при бактеріальному риніті	40 щурів	Інтраназальні змиви	ДК, ТБК-продукти, Кат, ВГ
4	Визначення показників ПОЛ та АОЗ при бактеріальному риніті		Сироватка крові	ДК, ТБК-продукти, Кат, ВГ
5	Визначення імунологічних показників при хімічному риніті	40 щурів	Інтраназальні змиви	Лізоцим, фагоцитарна активність нейтрофілів: ФІ, ФЧ; НСТ-тест, активність натуральних кілерних клітин (НК)

<i>Продовження табл. 2.1</i>				
1	2	3	4	5
6	Визначення імунологічних показників при хімічному риніті		Сироватка крові	титр гетерофільних аглютинінів та гемолізінів
7	Визначення імунологічних при бактеріальному риніті	40 щурів	Інтраназальні змиви	Лізоцим, фагоцитарна активність нейтрофілів: ФІ, ФЧ; НСТ-тест, активність натуральних кілерних клітин (NK)
8	Визначення імунологічних показників при бактеріальному риніті		Сироватка крові	титр гетерофільних аглютинінів та гемолізінів
9	Гістологічне дослідження слизової оболонки носових ходів при хімічному риніті	24 щурів	тканина	Слизова носових ходів
10	Гістологічне дослідження слизової оболонки носових ходів при бактеріальному риніті	24 щурів	тканина	Слизова носових ходів

Утримання тварин та спосіб їх евтаназії. Піддослідні тварини знаходилися у віварії центральної науково-дослідної лабораторії НФаУ м. Харків (зав. ЦНДЛ – канд. фарм. наук, ст.н.с. О. Ю. Кошева) і перед початком експерименту проходили акліматизацію в умовах кімнати для проведення випробувань впродовж 7-ми днів. Утримання тварин відповідало діючим правилам щодо пристроїв, обладнання та утримання віваріїв. Тварини знаходилися на стандартному харчовому раціоні з вільним доступом до води, по 6

щурів у стандартних металевих клітках без впливу штучних джерел освітлення. Усі втручання та евтаназію тварин здійснювали з дотриманням принципів «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментальних і інших наукових цілей» (Страсбург, 1986 р., із змінами, внесеними в 1998 р.) та ухвали П'ятого Національного конгресу з біоетики (Київ, 2013) [15, 76]. Комісією з біоетики НФаУ порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено (протокол № 3 від 15.03.2017 р.). Виводили з експерименту шляхом декапітації під легким інгаляційним наркозом (ексикатор) [15, 73].

Дослідження проводили у ЦНДЛ НФаУ, яка сертифікована ДФЦ МОЗ України (посвідчення № 008/11 від 18.10.2011 р.).

При виконанні дисертаційної роботи використовували комплексний методичний підхід із залученням патофізіологічних, біохімічних, імунологічних, гістологічних та статистичних методів дослідження. Усього було використано 2 експериментальні моделі та 21 метод дослідження.

Патофізіологічні методи полягали в моделюванні в експерименті хімічного та бактеріального ринітів.

За допомогою біохімічних та імунологічних методів досліджували стан системи перекисного окислення ліпідів і антиоксидантного захисту та імунологічної реактивності при ринітах без лікування та за умов застосування антиоксидантів.

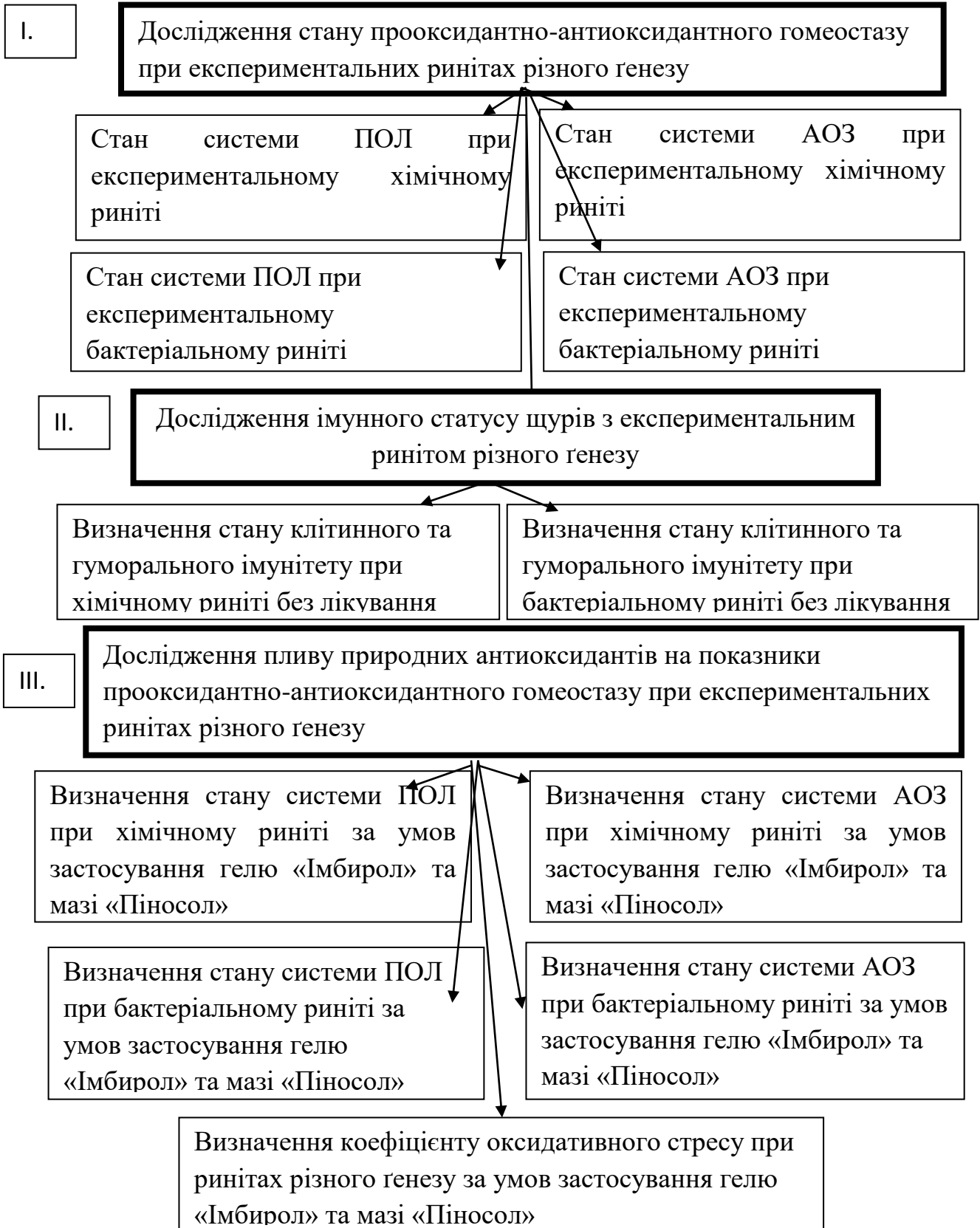
У якості антиоксидантних засобів обрано засоби природного походження: відомий засіб мазь «Піносол» з антиоксидантними властивостями та новостворений гель «Імбирол» з антиоксидантними властивостями, який розроблено на кафедрі НФаУ під керівництвом доктора фармацевтичних наук, професора Баранової І.О. Мазь «Піносол»: назальна форма, виробництва АТ «Санека Фармасьютікалз» (Словацька Республіка), до складу якої входять ефірні олії сосни звичайної, евкаліпту, тимол, токоферолу ацетат та ментол. «Піносол» проявляє протизапальну, антимікробну, антиоксидантну дію, використовується для

лікування гострих та хронічних ринітів, а також є препаратом природного походження [23].

Гістологічне дослідження перебігу запалення і процесів регенерації слизової оболонки носових ходів при експериментальних ринітах проводили, щоб морфологічно підтвердити ефективність застосування антиоксидантів на перебіг запального процесу [34].

Також для підтвердження ефективності використання антиоксидантів досліджували перебіг ринітів за клінічними ознаками, такими як загальний стан, інтенсивність носової секреції, температура та маса тіла [73, 81].

Дослідження були проведені за наступними етапами (рис. 2.1).



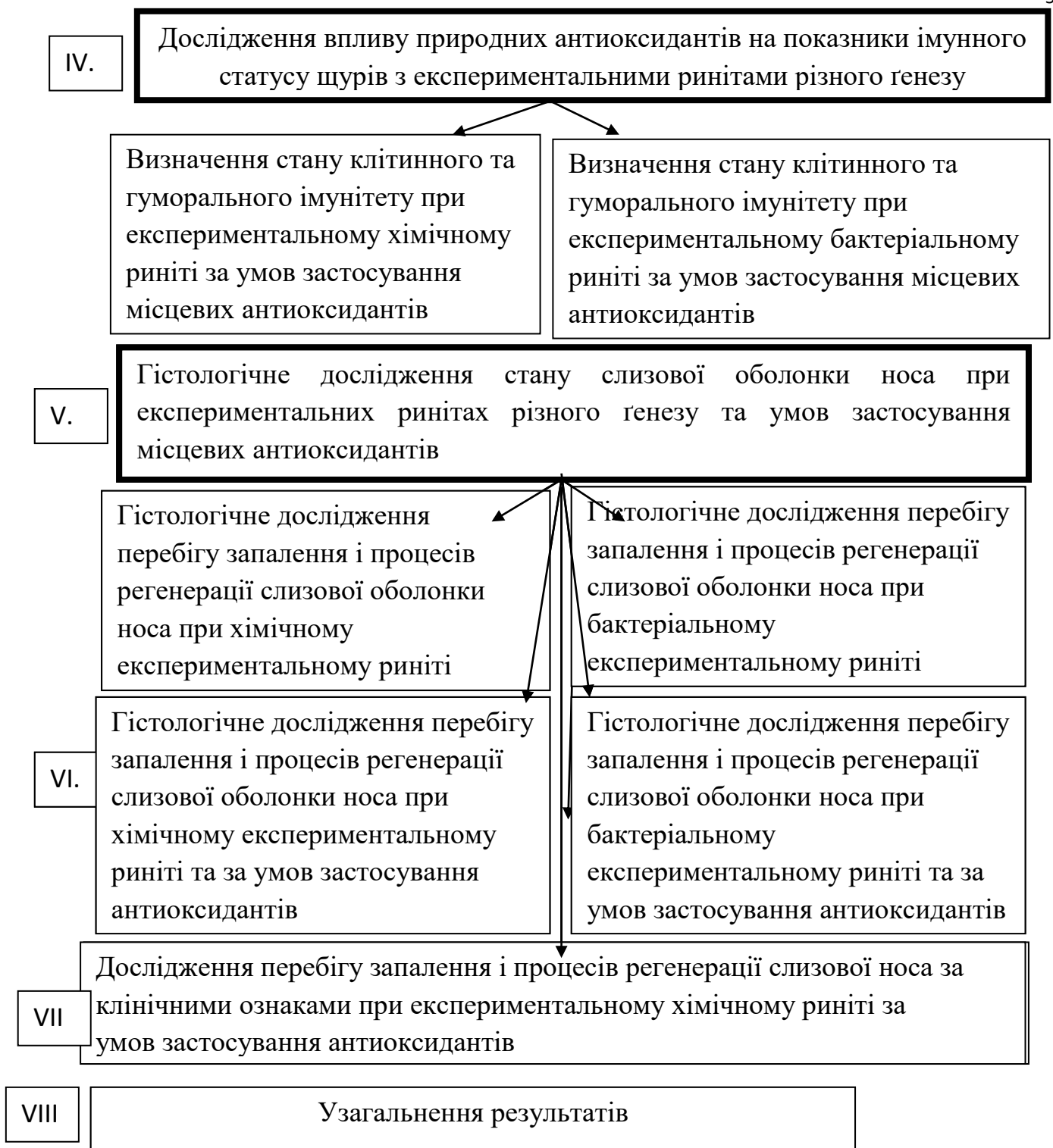


Рис. 2.1. Дизайн дослідження.

Методи моделювання в експерименті хімічного та бактеріального ринітів.

Першою моделлю гострого запалення носової порожнини був хімічний риніт, викликаний їдким натром. Дана модель обрана з урахуванням її високої відтворюваності, нетривалого перебігу і відповідності характеру патології клінічній картині захворювання у людини. Патологію викликали шляхом

введення вологого тампона, просякненого 40 % розчином їдконого натрію, у кожную ніздрю носа тривалістю 1-2 секунди. Щурів розподілили на 4 групи: перша група – інтактний контроль, друга – хімічний риніт, в третю та четверту групи входили тварини, яким на фоні розвитку хімічного риніту інтраназально вводили препарати гель «Імбирол» та мазь «Піносол» відповідно. Термін спостереження становив 14 днів. Параметри ПОЛ/АОЗ, імунологічні показники, клінічні ознаки, вивчали у інтраназальних змивах та сироватці крові, які досліджували на 3-й та 14-й день експерименту. Патоморфологічне дослідження слизової оболонки носа проводили на 3-ю та 14-у добу експерименту [5, 52, 81].

Експериментальную модель бактеріального риніту відтворювали шляхом інтраназального одноразового введення добової культури музейного штаму *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (у кожний носовий прохід) у кількості 0,2 мм³. Щурів теж розподілили на 4 групи: перша група – інтактний контроль, друга – бактеріальний риніт, в третю та четверту групи увійшли тварини, яким на фоні розвитку бактеріального риніту інтраназально вводили гель «Імбирол» та мазь «Піносол» відповідно. Термін спостереження становив 14 днів. Параметри ПОЛ/АОЗ, імунологічні показники, клінічні ознаки, вивчали в інтраназальних змивах та сироватці крові, які досліджували на 3-й та 14-й день експерименту [76, 81]. Патоморфологічне дослідження слизової оболонки носа проводили на 3-ю, 7-у та 14-у добу експерименту.

Вивчення ступеня впливу антиоксидантів гелю «Імбирол» та мазі «Піносол» на обох експериментальних моделях проводили шляхом їх місцевого нанесення з 3-ї до 14-ї доби включно на слизову оболонку носа піддослідних тварин у кількості 0,2 мм³ шпателем або за допомогою ватної палички. Змиви носової порожнини готували наступним чином. У кожную ніздрю щура шприцом з тонкою тупою голкою заливали 3-4 рази 2 мл фізіологічного розчину, який збирали через воронку в пробірку. Пробірку зі змивами центрифугували при 3000 об./хв. 10 хв., в надосадовій рідині визначали біохімічні показники за нижченаведеними методами. Цитологічні дослідження проводили на клітинах, виділених зі змивів шляхом диференціального центрифугування [14, 15, 19, 20].

Забір крові здійснювали з хвостової вени. Щурів вводили в рауш-наркоз (каліпсол 0,1-0,15 мл підшкірно). Хвіст масажували, обробляли 3 % спиртовим розчином йоду. Кінчик хвоста обрізали і збирали до центрифужної пробірки до 0,5 мл і більше крові. Кров відстоювали до утворення згустку, а потім центрифугували впродовж 5 хв. зі швидкістю обертання центрифуги 3000 об./хв.

Вивчення біохімічних показників вільнорадикального окиснення та антиоксидантного захисту.

За допомогою біохімічних методів аналізу в інтраназальних змивах та сироватці крові визначали показники, які узагальнено характеризують збалансованість проокисних і антиокислювальних систем, відповідальних за стан процесу вільнорадикального окиснення.

Що стосується прооксидантних механізмів, то визначали вміст первинних і вторинних продуктів ПОЛ: дієнових кон'югатів (ДК) і продуктів, що реагують з тіобарбітуровою кислотою (ТБК-Р) [2, 35, 96].

Згадані метаболіти послідовно утворюються на шляху вільно-радикального перетворення ненасичених жирних кислот мембранних фосфоліпідів і їх одночасне визначення дає уявлення про ступінь мембранної деструкції.

Показники перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту визначали за загальноприйнятими методами [96].

Дієнові кон'югати (ДК) визначали спектрофотометрично при 233 нм класичним методом Z. Placer (1968) в модифікації Гаврилова В.Б., Мишкорудной М.И. (1983). Ліпіди екстрагували гептан-ізопропаноловою сумішшю. Метод визначення вмісту ДК ґрунтується на здатності кон'югованих дієнових ацилів і їх гідроксипохідних до інтенсивного поглинання в області 232-233 нм. Вміст дієнових кон'югатів розраховували, виходячи з коефіцієнта молярної екстинкції $\epsilon=2,2 \cdot 10^5$ моль⁻¹см⁻¹. Розрахунок концентрації ДК проводили за формулою 2.1:

$$C = E_{\text{проба}} * 22,727 \text{ (мкмоль/л)} \quad (2.1),$$

де C – концентрація відповідного продукту ПОЛ,

$E_{\text{проба}}$ – оптична щільність проби,

E – коефіцієнт молярної екстинкції.

Вміст ТБК-реактантів визначали за методом І.Д. Стальної, Т.Г. Гаришвілі (1977), що ґрунтується на реакції між малоновим діальдегідом і тіобарбітуровою кислотою, яка в умовах високої температури та кислого середовища відбувається з утворенням забарвленого триметинового комплексу з максимумом поглинання при довжині хвилі 532 нм. Кількість ТБК-реактантів розраховували, виходячи з молярного коефіцієнта екстинкції $\varepsilon=1,56 \cdot 10^5$ моль⁻¹см⁻¹.

З метою оцінки балансу окисно-відновлювальних процесів використовували коефіцієнт ред/ох-балансу ($K_{\text{red/ox}}$), який розраховували як відношення сумарної кількості прооксидантів до сумарної кількості антиоксидантів [86] і виражали у відносних одиницях вмісту прооксидантів (ТБК-Р) до добутку вмісту антиоксидантів (каталази та відновленого глутатіону). За одиницю приймали значення величин, що визначали у інтактних тварин [14, 35].

Стан АОЗ оцінювали за вмістом відновленого глутатіону (ВГ) і активністю ферменту антиоксидантного захисту каталази (Кат) в крові і в інтраназальних змивах слизової оболонки носа. Принцип методу визначення вмісту ВГ ґрунтується на здатності низькомолекулярних тіолових сполук при взаємодії з ДТНБ (5,5-дитіо-біс (2-нітробензоатом) утворювати забарвлену сполуку – тіо-2-нітробензойну кислоту, водний розчин якої має максимум поглинання при $\lambda = 412$ нм.

Активність Кат оцінювали за методом Королюк зі співавт. В основі методу лежить здатність перекису водню утворювати з солями молібдену стійкий забарвлений комплекс. Застосовували такі реактиви: трис-НСІ-буфер 0,05 М з рН 7,8; 4 % розчин молібдату амонію і 0,03 % розчин перекису водню. Екстинкції вимірювали на УФ-26 при довжині хвилі 410 нм проти контрольної проби, в яку замість перекису водню вносили 2 мл води.

Забір крові та змиви носової порожнини здійснювали, як вказано вище.

Інтенсивність забарвлення холостої і контрольної проб на противагу початковому показнику вимірювали на концентраційному фотоколориметрі КФК-2МП при довжині хвилі 340 нм [35, 65]. Активність каталази розраховували за формулою 2.2:

$$E = (A_{\text{хол.}} - A_{\text{контр.}}) V \cdot t \cdot K \quad (2.2),$$

де E – активність каталази (в мкат/л в сироватці крові або мкмоль/хв – в гомогенаті печінки);

$A_{\text{хол.}}$ – екстинкція холостої проби;

$A_{\text{контр.}}$ – екстинкція дослідної проби;

V – об'єм проби (0,1 мл), що вноситься;

t – час інкубації (600 с);

K – коефіцієнт мілімолярної екстинкції перекису водню ($22,2 \cdot 10^3 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

Оцінку результатів біохімічних досліджень здійснювали згідно з існуючими стандартами шляхом співставлення показників групи порівняння з основними і початковими показниками, а також між підгрупами групи порівняння залежно від експозиції експерименту [27, 74].

Визначення коефіцієнту оксидативного стресу проводили за формулою [45]:

$$K = (\text{ДК(EP/IK)} \times \text{ТБК-продукти (EP/IK)}) / (\text{Кат (EP/IK)} \times \text{ВГ (EP/IK)}), \quad (2.3)$$

де EP – показники групи з експериментальним ринітом;

IK – інтактний контроль.

Із імунологічних показників визначали:

1. В назальному змиві – лізоцим, фагоцитарну активність нейтрофілів, метаболічну активність нейтрофілів (НСТ-тест), активність натуральних (вроджених) кілерних клітин (НКК).

2. В крові: титр гетерофільних аглютининів та гемолізинів.

Визначення концентрації лізоциму в назальному змиві проводили нефелометричним методом, заснованим на здатності лізоциму секретів слизової оболонки носа розщеплювати полісахариди клітинної оболонки бактерій *Micrococcus lysodenticus*. Активність ферменту визначали за зміною мутності суспензії *Micrococcus lysodenticus* [14, 35, 153].

Для визначення концентрації лізоциму в назальному змиві готували наступні **реактиви**:

– 20 мг ацетонового порошку культури *M. lysodenticus* ретельно розтирали в невеликому об'ємі 1/15 М фосфатного буфера рН 6,25, потім доливали буфер до об'єму 100 мл. У підсумку концентрація культури дорівнювала 100 од. на 1 мл по оптичному стандарту густини або 0,66 од. оптичної густини.

– 1/15 М К-На-фосфатний буфер, рН 6,25 : 136,15 г KH_2PO_4 розчиняли в 1000 мл дистильованої води. 178,4 г двозаміщеного Na_2HPO_4 розчиняли в 1000 мл дистильованої води. Змішували 70 мл KH_2PO_4 (1 М) і 30 мл Na_2HPO_4 , потім розбавляли отриманий буфер до концентрації 1/15 М. рН розчину контролювали за допомогою рН-метра.

– Кристалічний лізоцим. 5 мг препарату розчиняли в 5 мл 1/15 М фосфатного буфера, рН 6,25 (вихідний розчин). Його зберігали в холодильнику протягом 2 тижнів при +8 +4 °С. Безпосередньо перед дослідом вихідний розчин розбавляли фосфатним буфером до концентрації 3,125, 6,25, 12,5, 25 та 50 мкг / мл (для побудови калібрувальної кривої).

Порядок виконання методики. У дослідні проби вносили по 0,1 мл секрету слизової оболонки носа, розведеного в 0,1 мл 0,9% розчину NaCl , додавали 0,4 мл 1/15 М фосфатного буфера, рН 6,25, та 2 мл стандартизованої суспензії *Micrococcus lysodenticus*. Пробі інкубували 30 хвилин при 37 С, після чого відразу ж фотометрували проти 1/15 М фосфатного буфера, рН 6,25, на нефелометрі в кюветах з товщиною шару 10 мм при довжині хвилі 340 нм. Для побудови калібрувальної кривої методику проводили аналогічно дослідній пробі, лише замість проб секрету слизової носа брали відповідні концентрації розведеного лізоциму (3,125, 6,25, 12,5, 25 та 50 мкг/мл). На підставі отриманих даних будували калібрувальну криву. На осі абсцис відкладали кількість лізоциму в пробі (мкг), на осі ординат – одиниці оптичної густини. Активність досліджуваного ферменту секрету оцінювали в мкг кристалічного лізоциму / мг білка.

Фагоцитарну активність нейтрофілів визначали за фагоцитарним індексом (ФІ) – процентом клітин, які вступили в фагоцитоз, від загальної їх кількості, та фагоцитарним числом (ФЧ) – середньою кількістю поглинутої тест-

культури, яка знаходиться всередині одного фагоцита. В якості тест-культури застосовували 0,05% суспензію формалізованих пекарських дріжджів [35, 64].

Реактиви, розчини та матеріали:

0,15 М розчин NaCl; суспензія формалізованих дріжджових клітин; барвник Майн-Грюнвальда; барвник Романовського-Гімза.

Нейтрофіли виділяли з назального змиву шляхом центрифугування у градієнті фікол-триомбаст з густиною 1,097 г/мл та трикратного відмивання в розчині Хенкса, після чого готували суспензію нейтрофілів з концентрацією 10^6 кл./мл.

В якості тест-частинок використовували суспензію пекарських дріжджів. Приготування тест-частинок. Брали ліофілізовані дріжджі, розводили у співвідношенні 1:5 ізотонічним розчином натрію хлориду і витримували на киплячій водяній бані 60 хв. Після охолодження надосадову рідину зливали і добавляли 10% формалін. Зберігали при $+8 - +4$ °C. Перед дослідженням дріжджі тричі відмивали в розчині Хенкса. Для постановки реакції готували 1% робочий розчин дріжджів в розчині Хенкса (10^9 клітин).

Порядок виконання методики. До 0,1 мл 1% суспензії дріжджів додавали 0,1 мл суспензії нейтрофілів. Проби інкубували 30 хв. при 37°C (періодично перемішуючи). Через 30 хв. проби відмивали двічі у 0,15 М розчині NaCl при 1500 об./хв. на лабораторній центрифугі ОПН-3. Після останнього центрифугування надосадову рідину видаляли піпеткою. Із осаду робили мазки на знежирених предметних стеклах. Приготовлені мазки висушували при кімнатній температурі. Мазки фіксували барвником Майн-Грюнвальда протягом 10 хвилин. Мазки промивали дистильованою водою, висушували при кімнатній температурі. Висушені мазки фарбували барвником Романовського-Гімза протягом 5-8 хвилин. Фарбу змивали дистильованою водою, мазки висушували при кімнатній температурі. Після підсихання мазки дивилися під мікроскопом «Біолам» в імерсійній системі, підраховуючи загальну кількість нейтрофілів (не менше 200 клітин), кількість нейтрофілів, які поглинули дріжджі, та загальну кількість

поглинутих дріжджових клітин. Проводили розрахунок показників фагоцитозу: фагоцитарного індексу та фагоцитарного числа.

Загальну окислювально-відновну (метаболічну) активність нейтрофілів оцінювали в тесті відновлення нітросинього тетразолію (НСТ-тест). Принцип методу заснований на визначенні метаболічної активності нейтрофілів за поглинанням гранулоцитами нітросинього тетразолію (НСТ) і відновленням його в формазан, який виявляється у вигляді гранул темно-синього або чорного кольору в залежності від барвника [28, 35].

Реактиви, розчини та матеріали: 0,1% розчин НСТ («Sigma») в фосфатно-сольовому буферному розчині, рН 7,2-7,4; барвник – 0,1% розчин нейтрального червоного в 0,5% розчині NaCl; фосфатно-сольовий буфер (ФСБ), рН 7,2-7,4; фіксуючий розчин формаліну (спирт етиловий 96°+формалін 40% у співвідношенні 1:1).

Порядок виконання методики. Суспензію нейтрофілів готували аналогічно попередньому методу, концентрацію нейтрофілів доводили до 10^7 кл./мл. До 0,1 мл суспензії нейтрофілів додавали 0,1 мл 0,1% розчину НСТ. Ретельно перемішували і ставили на інкубацію в термостат при температурі 37° С на 20 хвилин. Суміш після інкубації фіксували в розчині формаліну і спирту 3 хвилини. Після цього пробі відмивали 1 раз в фосфатно-сольовому буферному розчині, рН 7,2-7,4. Надосадову рідину видаляли. Із осаду робили мазки на знежирених предметних стеклах. Приготовлені мазки висушували при кімнатній температурі. Мазки фіксували у формаліново-спиртовому розчині протягом 30 с і дофарбовували 0,1 розчином нейтрального червоного. Далі мазки промивали дистильованою водою, висушували при кімнатній температурі. Після підсихання мазки дивилися під мікроскопом «Біолам» в імерсійній системі, підраховуючи загальну кількість нейтрофілів (не менше 200 клітин) та кількість нейтрофілів, які мають у цитоплазмі гранули формазану. Проводили розрахунок показника НСТ-тесту, визначаючи процент формазан-позитивних клітин від загального їх числа.

Активність натуральних кілерних (НК) клітин оцінювали в цитотоксичному тесті, заснованому на оцінці їх здатності лізувати трансформовані клітини [28, 35].

НК клітини виділяли у градієнті з густиною 1,062-1,064, оскільки вони більші за розміром за інші лімфоцити і мають нижчу питому вагу. В дослід брали концентрацію клітин 5×10^6 кл./мл. В якості клітин-мішеней були клітини лінії Нер-2 (раку гортані людини), які брали в концентрації 5×10^4 кл./мл. Тобто, співвідношення клітин-ефекторів до клітин-мішеней було 100:1.

Клітини-мішені знімали з матриксів розчином трипсину, потім осаджували центрифугуванням. Після цього осад ресуспензували в 0,04% розчині нейтрального червоного та інкубували 15 хв. при температурі 37 °С. Профарбовані клітини двічі відмивали фосфатно-сольовим буферним розчином, рН 7,2-7,4, з 1 % НКС (нормальною кролячою сироваткою). Після цього ресуспензували в розчині Хенкса з 5% НКС до концентрації 5×10^4 кл./мл. Клітини-мішені по 100 мкл вносили в лунки полістирольних планшетів для імунологічних досліджень, інкубували 1 год. при 37 °С. Клітини-ефектори, розведені в розчині Хенкса з 5% НКС до концентрації 5×10^6 кл./мл, добавляли по 100 мкл в лунки з клітинами-мішенями. В якості контролю брали 100 мкл розчину Хенкса з 5% НКС. Інкубували 16 год. при температурі 37 °С у вологій атмосфері з 5 % CO₂.

Після інкубації 100 мкл супернатанту із кожної лунки переносили в інший планшет і визначали оптичну густина на імуноферментному аналізаторі при довжині хвилі 540 нм. Індекс НК клітин визначали за формулою 2.3:

$$[(T_d - T_k) / T_d] \times 100 \% \quad (2.3),$$

де T_d – оптична густина в досліді, T_k – оптична густина в контролі.

Вивчення стану гуморальної ланки імунітету проводили шляхом дослідження рівня природних антитіл гемолізінів та гетерофільних аглютининів в сироватці крові.

Рівень природних антитіл гемолізинів оцінювали за ступенем гемолізу еритроцитів барана під дією гемолізинів сироватки крові в присутності комплементу [19].

Реактиви, розчини та матеріали: 0,9 % розчин NaCl; досліджувана сироватка; 1% суспензія еритроцитів барана; комплемент морської свинки сухий (ТОВ «Біолек», м. Харків), розведений в 1 мл 0,9 % розчину NaCl.

Порядок виконання методики. Постановку проводили в полістирольних планшетах для імунологічних досліджень. Перед дослідженням сироватку інактивували протягом 30 хв. у водяній бані при температурі 56 °С. За допомогою дозатора змінного об'єму в кожен лунку планшета вносили по 0,05 мл 0,9 % розчину натрію хлориду та в кожен першу лунку планшета вносили по 0,05 мл інактивованої досліджуваної сироватки. Методом титрування проводили двократні розведення досліджуваних сироваток (1:2, 1:4, 1:8, 1:16 і т.д.). Змінюючи наконечник, до кожного розведення сироватки додавали по 0,05 мл 1% суспензії еритроцитів барана та 0,05 мл комплементу морської свинки. Обережно перемішували вміст лунок і ставили на інкубацію в термостат при температурі 37 °С на 1 год. Проводили облік результатів: те останнє розведення сироватки, у якому ще визначається аглютинація еритроцитів і є титром антитіл, який визначали.

Рівень природних гетерофільних антитіл визначали в реакції аглютинації з еритроцитами барана (реакція Пауля-Буннелля) [19, 20, 35].

Реактиви, розчини та матеріали: 0,15 М розчин NaCl; інактивована досліджувана сироватка; 3 % суспензія еритроцитів барана; фосфатно-сольовий буферний розчин, рН 7,2-7,4.

Порядок виконання методики. Постановку проводили в полістирольних планшетах для імунологічних досліджень. Перед дослідженням сироватку інактивували протягом 30 хв. у бані водяній при температурі 56 °С. За допомогою дозатора змінного об'єму в кожен лунку планшета вносили по 0,05 фосфатно-сольового буферного розчину, рН 7,2-7,4, змінювали наконечник та в кожен першу лунку планшета вносили по 0,05 мл інактивованої досліджуваної

сироватки. Методом титрування проводили двократні розведення досліджуваних сироваток (1:2, 1:4, 1:8, 1:16 і т.д.). Змінивши наконечник, до кожного розведення сироватки додавали по 0,05 мл 3 % суспензії еритроцитів барана. Обережно перемішували вміст лунок і ставили на інкубацію в термостат при температурі 37 °С на 2 год. Потім планшети переносили в холодильник і інкубувати протягом 24 годин при +4° – +8 °С. Проводили облік результатів: те останнє розведення сироватки, у якому ще визначається аглютинація еритроцитів, і є титром антитіл, який визначали.

Морфологічні дослідження проведені у ЦНДЛ НФаУ за участі ст. н. співр. Лар'яновської Ю. Б. При хімічному та бактеріальному ринітах дослідження проводили через 3 та 14 діб після їх відтворення у щурів без лікування та у щурів, яких з 3-ї доби після хімічної травми/інфікування та до кінця терміну спостереження поспіль лікували гелем «Імбирол» або маззю «Піносол». Досліджена слизова оболонка присінку носу та бічної стінки носового ходу щурів усіх 4-х експериментальних груп при кожному з експериментальних ринітів.

Виведення щурів з експерименту проведено передозуванням парами хлороформу. У тварин відсікали всю ділянку зовнішнього носа (корінь, спинку та верхівку носу з ніздрями включно), фіксували у 10 % розчині формаліну. Після фіксації, під контролем стереоскопічного мікроскопа МБС-8, у ніздрю вводили пилку ножиць, та, просуваючи її у напрямку лобної області, розрізали тканини, вирізали стінку присінку і носового ходу. Зразки для подальшого світлооптичного дослідження зневоднювали в спиртах зростаючої міцності, заливали у целоїдин-парафін. Зрізи забарвлювали гематоксиліном та еозином.

На зрізах проводили напівкількісну оцінку стану слизової оболонки досліджених відділів носу за наступними показниками: некроз слизової оболонки, деструкція епітелію, запальна реакція у власній пластинці слизової оболонки та підслизовому шарі, функціональна активність келихоподібних клітин та епітеліальних клітин слизово-серозних залоз підслизового шару [34].

Лікувальну ефективність препаратів оцінювали також за клінічними ознаками: зміною клінічної картини ураження, загальним станом тварин, результатами клінічного аналізу крові, а також масо- і термометрії [34].

Клінічну картину перебігу гострого риніту характеризували за показником інтенсивності носової секреції, який оцінювали в балах за наступною, запропонованою схемою:

- 0 балів – ознака відсутня;
- 1 бал – ознака виражена слабо;
- 2 бали – ознака виражена помірно;
- 3 бали – ознака виражена сильно.

При наявності гною в виділеннях до одержаної кількості балів додавали 1 бал. За основу напівкількісної зорової оцінки взято метод В.В. Соколовського. Мікроскопічний аналіз мікропрепаратів проводили під мікроскопом «Granum». Мікрофотографування зображень здійснювали цифровою відеокамерою «Granum ДСМ 310». Фотознімки обробляли на комп'ютері «Pentium 2,4 GHz» за допомогою програми «Tour View».

Загальний стан тварин оцінювали, зокрема, за динамікою маси тіла. Аналіз динаміки маси тіла дозволяє зробити висновок про стан загальнотрофічних процесів в організмі тварин.

Всі вказані функціональні та морфологічні показники стану організму експериментальних тварин вивчали до початку експерименту (вихідні дані), на 3-ю добу експерименту (після розвитку патології до початку лікування), 5-у, 7-у та 14-у добу експерименту (1-й, 3-й, 5-й та 12-й дні лікування) [74].

Статистичний аналіз даних проводили із визначенням середнього арифметичного значення (\bar{X}) та його статистичної похибки (Sx) для груп із нормальним розподілом ознак, та медіани (Me) і мінімальних та максимальних даних для груп із ненормальним розподілом ознак. Для аналізу відмінностей використовували критерій Ньюмена-Кейсла та критерій Даннета. Оцінку «нульових» гіпотез здійснювали на рівні значущості не більше 0,05 [58, 83].

Статистичний аналіз отриманих результатів проводили за допомогою стандартних пакетів програм Exel (2007), і Statistica, v. 6,0 (StatSoft Inc., США) на персональному комп'ютері Pentium III. Визначення виду розподілу ознаки в виборці проводили з використанням критерію Шапіро-Уїлкі, а рівність дисперсій розподілу ознак в групах – за допомогою критерію Левена. Для множинних порівнянь даних з нормальним розподілом проводили параметричний однофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA) і застосовували метод Стьюдента-Ньюмена-Кейлса, а в інших випадках – ранговий аналіз варіацій по Крускала-Уолліса. Відмінності між вибірками вважали статистично значущими при $p < 0,05$.

Висновки до розділу 2

1. Теоретично обґрунтована загальна концепція та створено модуль сучасного патофізіологічного дослідження особливостей прооксидантно-антиоксидантних та імунологічних механізмів при експериментальних ринітах різного генезу та патогенетичного обґрунтування місцевого застосування природних антиоксидантів.
2. Опрацьовано методики патофізіологічних, біохімічних, імунологічних та гістологічних досліджень за допомогою яких з'ясовано особливості прооксидантно-антиоксидантних та імунологічних механізмів при експериментальних ринітах хімічного та бактеріального походження та патогенетично обґрунтовано місцеве застосування природних антиоксидантів, а саме у складі гелю «Імбирол» та мазі «Піносол».

РОЗДІЛ 3

ПОРУШЕННЯ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО ГОМЕОСТАЗУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ РИНИТАХ РІЗНОГО ГЕНЕЗУ

3.1. Стан системи перекисного окислення ліпідів та антиоксидантного захисту при експериментальному хімічному риніті

До окислювальних компонентів біологічних мембран належать молекулярний кисень, перекис водню, гідроперекиси, гідроксильний радикал, супероксиданіон-радикал, вільні іони металів [16]. Проте, загальновідомо, що основним ініціатором вільнорадикального окиснення є активні форми кисню (АФК), кількість яких може зростати під дією несприятливих факторів (експериментальних або природних) і спричиняти оксидативний стрес. Оксидативний стрес – наслідок порушення балансу між продукцією вільних радикалів і виразністю антиоксидантного захисту. Він проявляється зростанням вмісту проміжних і кінцевих продуктів окислення ліпідів, ліпопротеїдів і білків, як внутрішньо-, так і позаклітинних, в тканинах і крові. Радикали кисню виконують фізіологічну функцію в ряді регуляторних систем, беруть участь в розвитку імунної відповіді на дію різних патогенів. Однак у високій концентрації вони призводять до розвитку оксидативного стресу з вираженими патологічними ефектами, які проявляються, в залежності від інтенсивності стресу, пошкодженням клітин, розвитком їх апоптозу або некрозу. Їхня дія на цитоплазматичні мембрани може бути основним чинником у патогенезі запалення. Так, доведено, що запальні клітини вивільняють ряд реактивних видів кисню на місці запалення, що призводить до збільшення окисного стресу [33]. З іншого боку, ряд реактивних видів кисню / азоту (як етіологічні чинники) можуть ініціювати внутрішньоклітинний каскад сигналізації, що посилює експресію прозапального гену [36]. Таким чином, запалення та окислювальний стрес є тісно пов'язаними патофізіологічними явищами.

Для дослідження оксидативного стресу використовуються показники ПОЛ: гідроперекиси ліпідів, дієнові кон'югати та ТБК-активні продукти. ДК є первинними продуктами ПОЛ. Ліпоперокси є дуже нестійкими сполуками, і під дією окисної дегенерації накопичуються вторинні продукти окислення. Найбільш важливим ненасиченим діальдегідом є МДА, який вступає в реакцію з тіобарбітуровою кислотою (ТБК). Така реакція перебігає при високій температурі та кислому значенні рН з утворенням забарвленого триметинового комплексу, максимум поглинання якого припадає на 533 нм, та за допомогою спектрофотометричного аналізу визначається його вміст у сироватці крові. Спостереження за динамікою змін параметрів прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу внаслідок експериментально відтвореного хімічного риніту дозволить проаналізувати отримані дані та достовірно встановити ступінь такого порушення.

На моделі експериментального хімічного риніту, що викликався нанесенням їдкою натрію у кожную ніздрю експериментальних тварин, ми дослідили перебіг процесів ПОЛ на 3-ю добу та наприкінці терміну спостереження (14-й день) за вищенаведеними параметрами в інтраназальних змивах та сироватці крові порівняно з інтактним контролем. Такі дані дозволять визначити порушення прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу на місцевому (інтраназальні змиви) та загальному (сироватка крові) рівнях. Результати визначення показників ПОЛ у інтраназальних змивах та сироватці крові подані у таблицях 3.1 та 3.2.

Отримані результати дозволили встановити розвиток оксидативного стресу у тварин з експериментальною патологією. Так, показники ДК та ТБК-продуктів у інтраназальних змивах підвищилися на 3-ю добу після відтворення риніту на 164,4% та 268,08% відповідно. Показники продуктів окиснення ліпідів у сироватці крові були збільшені на 174,1% (ДК) та 231,5% (ТБК). Означені параметри свідчили про розвиток виражених процесів пошкодження тканини експериментальним шляхом, $p < 0,05$.

Таблиця 3.1

Показники перекисного окислення ліпідів в інтраназальному змиві та сироватці крові щурів з експериментальним хімічним ринітом, 3-я доба

$$(\bar{X} \pm S_{\bar{x}})$$

Показники	Групи	
	I – інтактні щури	II – хімічний риніт
ДК, мкмоль/л (інтраназальні змиви)	0,497±0,054	0,817±0,029*
ТБК, мкмоль/л (інтраназальні змиви)	0,260±0,021	0,697±0,040*
ДК, мкмоль/л (сироватка крові)	0,421±0,033	0,733±0,034*
ТБК, мкмоль/л (сироватка крові)	0,489±0,036	1,132±0,045*

Примітки:

- * – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі інтактних тварин;
- n – кількість тварин у групі, 10.

Таблиця 3.2

Показники перекисного окислення ліпідів в інтраназальному змиві та сироватці крові щурів з експериментальним хімічним ринітом, 14-й день

$$(\bar{X} \pm S_{\bar{x}})$$

Показники	Групи	
	I – інтактні щури	II – хімічний риніт
1	2	3
ДК, мкмоль/л (інтраназальні змиви)	0,497±0,054	0,747±0,038*
ТБК, мкмоль/л (інтраназальні змиви)	0,263±0,010	0,660±0,12*

<i>Продовження табл.3.2</i>		
1	2	3
ДК, мкмоль/л (сироватка крові)	0,416±0,044	0,700±0,046*
ТБК, мкмоль/л (сироватка крові)	0,491±0,056	1,061±0,081*

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі інтактних тварин;
2. n – кількість тварин у групі, 10.

Результати, отримані наприкінці експерименту, показали, що внаслідок хімічного пошкодження слизової оболонки спостерігається підвищення показників ПОЛ навіть на 14-у добу після відтворення риніту. Так, у інтраназальних змивах рівень ТБК-продуктів достовірно зберігався на високому рівні і перевищував показники інтактної групи на 251%, ДК – на 150,3%. У сироватці крові спостерігали аналогічну тенденцію: рівень ТБК-продуктів був підвищений на 216,1%, ДК – на 168,3%.

Як видно з отриманих результатів, протягом терміну спостереження у тварин з експериментальним хімічним ринітом відбувалася достовірна активація ПОЛ. За показниками ТБК-продуктів та ДК як на місцевому, так і системному рівнях зсуви прооксидантної системи залишалися стабільно вираженими до кінця терміну спостереження без тенденції до компенсації.

Доведено формування перекисних сполук після відтворення експериментального хімічного риніту, кількість яких корелює з клінічним перебігом риніту. На противагу вільнорадикальним процесам та внаслідок утворення надлишку продуктів ПОЛ в організмі активується антиоксидантна система, представлена в першу чергу системою антиоксидантних ферментів: супероксиддимутазаю (СОД), яка зв'язує активні форми кисню з утворенням перекису водню; каталазою (Кат), яка деструктує перекиси в ліпідні гідроперокси; глутатіонпероксидазою, що редукує ліпідні гідроперокси за

рахунок окиснення глутатіону; глутатіонредуктазою, яка відновлює глутатіон шляхом окиснення НАДФН, останній відновлюється через цитохромний ланцюг і систему природних антиоксидантів [59].

Результати визначення показників АОЗ в умовах експериментального хімічного риніту в інтраназальних змивах та сироватці крові подані у таблицях 3.3 та 3.4.

Таблиця 3.3

Показники антиоксидантної системи в інтраназальному змиві та сироватці крові щурів з експериментальним хімічним ринітом, 3-я доба

$$(\bar{X} \pm S_{\bar{X}})$$

Показники	Групи	
	I – інтактні щури	II – хімічний риніт
Каталаза, мкат/л (інтраназальні змиви)	118,36±3,78	79,07±2,98*
ВГ, мкмоль/л (інтраназальні змиви)	3,19±0,23	2,21±0,12*
Каталаза, мкат/л (сироватка крові)	21,71±1,25	10,03±1,14*
ВГ, мкмоль/л (сироватка крові)	4,56±0,19	2,81±0,127*

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі інтактних тварин;
2. n – кількість тварин у групі, 10.

Спостерігали зниження активності системи АОЗ, про що свідчить зменшення активності Кат при експериментальному хімічному риніту на 3-ю добу в інтраназальних змивах у порівнянні з інтактною групою на 33,2%, вмісту відновленого глутатіону (ВГ) – на 30,72%. У сироватці крові на 3-ю добу зниження показників АОЗ спостерігали таке: активності Кат на 53,8%, вмісту ВГ – на 39%. Такі дані свідчать про достовірне зниження активності антиоксидантної

системи на початку експерименту внаслідок експериментального пошкодження тканини.

Таблиця 3.4

Показники антиоксидантної системи в інтраназальному змиві та сироватці крові щурів з експериментальним хімічним ринітом, 14-й день
($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$)

Показники	Групи	
	I – інтактні щури	II – хімічний риніт
Каталаза, мкат/л (інтраназальні змиви)	121,85±3,9	93,09±4,81*
ВГ, мкмоль/л (інтраназальні змиви)	3,32±0,208	2,45±0,104*
Каталаза, мкат/л (сироватка крові)	22,67±1,72	14,78±1,33*
ВГ, мкмоль/л (сироватка крові)	4,654±0,239	3,048±0,108*

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі інтактних тварин;
2. n – кількість тварин у групі, 10.

Слід зазначити, що зниження показників АОЗ відбувалося стійко, до 14-ї доби експерименту. Так, на 14-у добу після відтворення риніту активність Кат у інтраназальних змивах та у сироватці крові була знижена на 23,4% та 34,8%. Рівень ВГ також залишався достовірно нижчим показників інтактної групи в інтраназальних змивах та у сироватці крові – на 26,2% та 34,5% відповідно. Отже, показники АОЗ залишалися стабільно зниженими на тлі некомпенсованих збільшених показників ПОЛ протягом усього терміну спостереження та не мали тенденції до компенсації.

Таким чином доведено, що за умов експериментально відтвореного хімічного риніту протягом тривалого терміну спостереження спостерігається

наявність оксидативного стресу та неспроможність власної АОЗ експериментальних тварин компенсувати порушення прооксидантно-антиоксидантного стану.

3.2. Стан системи перекисного окислення ліпідів та антиоксидантного захисту при експериментальному бактеріальному риніті

На даному етапі експериментального дослідження метою стало визначення ступеня порушень прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу на іншій експериментальній моделі риніту, а саме бактеріальній. Експериментальну модель бактеріального риніту відтворювали шляхом інтраназального одноразового введення добової культури музейного штаму *Staphylococcus aureus* (у кожний носовий хід). В експерименті використовували щурів, яких розподіляли на дві групи: перша група інтактного контролю, друга – бактеріальний риніт. За допомогою біохімічних методів аналізу у інтраназальних змивах та в сироватці крові визначали показники, які узагальнено характеризують збалансованість проокисних і антиокислювальних систем, відповідальних за стан процесу вільнорадикального окиснення: ТБК-продуктів та ДК.

Результати визначення показників ПОЛ у інтраназальних змивах (на місцевому рівні) та сироватці крові (на загальному рівні) на моделі бактеріального риніту подані у таблицях 3.5 та 3.6.

Отримані результати дозволили встановити розвиток оксидативного стресу у тварин вже починаючи з 3-ї доби експерименту. Рівень ДК та ТБК-продуктів у інтраназальних змивах підвищився майже на 162,9% та 267,4% відповідно. Показники продуктів окислення ліпідів у сироватці крові були збільшені на 167,5% (ДК) та 246,3% (ТБК). Означені параметри свідчили про розвиток виражених процесів пошкодження тканини експериментальним шляхом, $p < 0,05$.

Отримані результати дозволили встановити, що навіть наприкінці періоду дослідження показники прооксидантної системи залишалися стабільно високими та не повернулися до параметрів норми. Так, рівень ДК та ТБК-продуктів у інтраназальних змивах залишався на рівні 140,5% та 247,0%. Подібна ситуація

була і у сироватці крові: збільшення рівня ДК на 159,6%; ТБК-продуктів – на 216,1%. Такі дані свідчать про недостатність механізмів компенсації.

Таблиця 3.5

Показники перекисного окислення ліпідів в інтраназальному змиві та сироватці крові щурів з експериментальним бактеріальним ринітом, 3-я доба

$$(\bar{X} \pm S_{\bar{x}})$$

Показники	Групи	
	I – інтактні щури	II – бактеріальний риніт
ДК, мкмоль/л (інтраназальні змиви)	0,440±0,054	0,717±0,031*
ТБК, мкмоль/л (інтраназальні змиви)	0,298±0,012	0,797±0,040*
ДК, мкмоль/л (сироватка крові)	0,441±0,031	0,739±0,029*
ТБК, мкмоль/л (сироватка крові)	0,663±0,075	1,633±0,041*

Примітки:

- * – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі інтактних тварин;
- n – кількість тварин у групі, 10.

Таблиця 3.6

Показники перекисного окислення ліпідів в інтраназальному змиві та сироватці крові щурів з експериментальним бактеріальним ринітом, 14-й

$$\text{день } (\bar{X} \pm S_{\bar{x}})$$

Показники	Групи	
	I – інтактні щури	II – бактеріальний риніт
1	2	3
ДК, мкмоль/л (інтраназальні змиви)	0,444±0,048	0,624±0,022*

<i>Продовження таблиці 3.6</i>		
1	2	3
ТБК, мкмоль/л (інтраназальні змиви)	0,302±0,010	0,746±0,135*
ДК, мкмоль/л (сироватка крові)	0,443±0,042	0,707±0,032*
ТБК, мкмоль/л (сироватка крові)	0,663±0,075	1,433±0,109*

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі інтактних тварин;
2. n – кількість тварин у групі, 10.

Як видно з отриманих результатів, протягом терміну спостереження у тварин з експериментальним бактеріальним ринітом відбувалася достовірна активація ПОЛ. За показниками ТБК-продуктів та ДК як на місцевому, так і системному рівнях зсуви прооксидантної системи залишалися стабільно вираженими до кінця терміну спостереження без тенденції до компенсації.

Доведено формування перекисних сполук за показниками ДК та ТБК-продуктів після відтворення експериментального бактеріального риніту, які характеризують розвиток та динаміку перебігу проокисних процесів як у інтраназальних змивах, так і сироватці крові експериментальних тварин.

Показники стану АОЗ відбивають механізми компенсації слизової оболонки носа за умови бактеріального запалення та доводять чи спростовують спроможність організму компенсувати зміни прооксидантно-антиоксидантної системи в цілому.

Результати визначення показників АОЗ в умовах експериментального бактеріального риніту в інтраназальних змивах та сироватці крові подані у таблицях 3.7 та 3.8.

Спостерігали зниження активності системи АОЗ, про що свідчить зменшення активності Кат при експериментальному бактеріальному риніті на 3-ю

добу у інтраназальних змивах у порівнянні з інтактною групою на 16,6%, відновленого глутатіону (ВГ) – на 32,08%. У сироватці крові на 3-ю добу спостерігали таке зниження показників АОЗ: Кат – на 53,05%, ВГ – на 40,51%. Такі дані свідчать про достовірне зниження активності антиоксидантної системи на початку експерименту.

Таблиця 3.7

Показники антиоксидантної системи в інтраназальному змиві та сироватці крові щурів з експериментальним бактеріальним ринітом, 3-я доба

$$(\bar{X} \pm S_{\bar{x}})$$

Показники	Групи	
	I – інтактні щури	II – бактеріальний риніт
Каталаза, мкат/л (інтраназальні змиви)	97,21±3,78	81,07±1,28*
ВГ, мкмоль/л (інтраназальні змиви)	3,21±0,21	2,18±0,11*
Каталаза, мкат/л (сироватка крові)	23,71±1,25	11,13±1,04*
ВГ, мкмоль/л (сироватка крові)	5,06±0,19	3,01±0,133*

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі інтактних тварин;
2. n – кількість тварин у групі, 10.

Таблиця 3.8

Показники антиоксидантної системи в інтраназальному змиві та сироватці крові щурів з експериментальним бактеріальним ринітом, 14-й

$$\text{день } (\bar{X} \pm S_{\bar{x}})$$

Показники	Групи	
	I – інтактні щури	II – бактеріальний риніт
1	2	3

<i>Продовження таблиці 3.8</i>		
1	2	3
Каталаза, мкат/л (інтраназальні змиви)	96,21±6,75	121,85±1,43*
ВГ, мкмоль/л (інтраназальні змиви)	3,05±0,10	2,25±0,109*
Каталаза, мкат/л (сироватка крові)	24,022±1,25	13,02±0,89*
ВГ, мкмоль/л (сироватка крові)	5,09±0,30	3,36±0,135*

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі інтактних тварин;
2. n – кількість тварин у групі, 10.

Слід зазначити, що низький рівень показників АОЗ залишався протягом усього експерименту у групі з бактеріальним ринітом, за виключенням активності каталази. Так, активність Кат у інтраназальних змивах підвищилася на 14-у добу на 126,7% по відношенню до інтактного контролю, тоді як у сироватці крові активність Кат залишалася на некомпенсованому рівні і недостатність її становила 45,8%. Рівень ВГ залишався достовірно нижчим показників інтактної групи у інтраназальних змивах та у сироватці крові – на 26,2% та 33,98% відповідно. Це свідчить про неможливість власної АОЗ експериментальних тварин компенсувати порушення прооксидантно-антиоксидантного стану.

Таким чином, доведено, що за умов експериментально відтвореного бактеріального риніту протягом тривалого, 14-денного спостереження мав місце розвиток оксидативного стресу та неспроможність власної АОЗ експериментальних тварин компенсувати порушення прооксидантно-антиоксидантного стану.

3.3. Визначення коефіцієнту оксидативного стресу при експериментальних ринітах різного генезу

Проведення низки досліджень щодо визначення порушення прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу при ринітах різного походження дозволило встановити достовірне підвищення показників ПОЛ. За показниками ТБК-продуктів та ДК як на місцевому, так і системному рівнях зсуви прооксидантної системи залишалися стабільно вираженими до кінця терміну спостереження без тенденції до компенсації. При цьому напруги власної АОЗ експериментальних тварин було недостатньо для компенсації порушення прооксидантно-антиоксидантного стану.

Проте визначення ступеня порушення ПОЛ та АОЗ на місцевому та системному рівнях та, головне, на моделях різних видів ринітів, стало нашим наступним завданням.

Визначення коефіцієнту оксидативного стресу проводили за формулою 2.3 [45].

Розрахунок проводили як для 3-ї, так і для 14-ї доби експерименту, для показників місцевого і системного рівнів.

Результати динаміки коефіцієнту оксидативного стресу при експериментальному хімічному риніті наведені на рис. 3.1 та табл. 3.9.

Отримані результати дослідження дозволили встановити, що відтворення експериментальної патології – першого виду риніту, а саме хімічного, – приводило до розвитку виражених порушень прооксидантно-антиоксидантної системи у порівнянні з інтактними тваринами. Необхідно враховувати той факт, що в нормі коефіцієнт оксидативного стресу наближається до показника 1,0, тобто демонструє рівновагу показників перекисного окислення та антиоксидантного захисту. За показником коефіцієнту оксидативного стресу у інтраназальних змивах спостерігається висока ступінь його зсуву як на 3-ю добу, так і 14-у добу. Коефіцієнт 9,52 свідчить про достовірне відтворення експериментальної патології та про серйозні порушення з боку системи ПОЛ та АОЗ. До 14-ї доби спостерігається певна позитивна динаміка коефіцієнтів оксидативного стресу, що свідчить про включення механізмів компенсації

тканини слизової оболонки носа. Проте встановлено недостатню потужність таких систем.

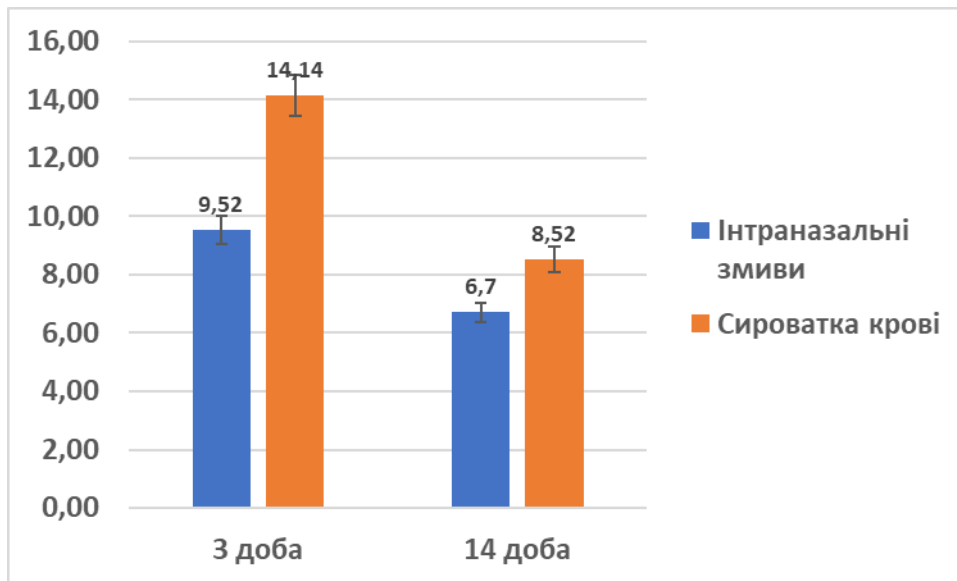


Рис. 3.1. Коефіцієнти оксидативного стресу на моделі експериментального хімічного риніту в інтраназальних змивах та сироватці крові експериментальних тварин.

Таблиця 3.9

Коефіцієнти оксидативного стресу на моделі експериментального хімічного риніту в інтраназальних змивах та сироватці крові експериментальних тварин контрольної патології, 3-я та 14-а доба ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)

Показники	3-я доба	14-а доба
інтраназальні змиви	9,52±1,43	6,7±1,03*
сироватка крові	14,14±1,22	8,52±0,59*

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ у порівнянні між показниками 3-ої та 14-ої доби в групі контрольної патології;

2. n – кількість тварин у групі, 10.

Більш серйозні наслідки порушення системи ПОЛ та АОЗ внаслідок хімічної травми тканини спостерігали в сироватці крові, зсуви якої значно перевищували коефіцієнт оксидативного стресу в інтраназальних змивах. Проте

констатували подібну динаміку до зниження коефіцієнту, тобто включення компенсації ступеню порушення системи ПОЛ та АОЗ.

Таким чином, за показниками коефіцієнту оксидативного стресу при експериментальному хімічному риніті встановлено високий ступінь порушення системи ПОЛ та АОЗ, при цьому на системному рівні такі зсуви були більш вираженими – у 1,49 рази на 3-ю добу та у 1,27 рази на 14-у добу експерименту. Такі дані доводять не тільки розвиток оксидативного стресу, але і демонструють декомпенсований стан системи ПОЛ та АОЗ навіть наприкінці 14-денного спостереження.

Результати динаміки коефіцієнту оксидативного стресу при експериментальному бактеріальному риніті представлені на рис. 3.2 та табл. 3.10.

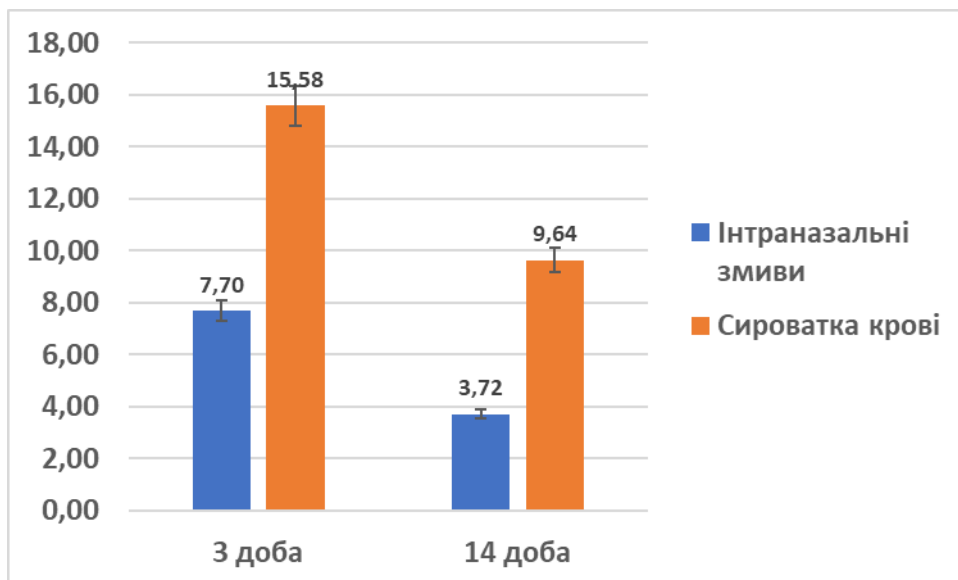


Рис. 3.2. Коефіцієнти оксидативного стресу на моделі експериментального бактеріального риніту в інтраназальних змивах та сироватці крові експериментальних тварин.

Отримані результати дослідження дозволили встановити, що відтворення експериментальної патології – другого, бактеріального, виду риніту – теж приводило до розвитку виражених порушень прооксидантно-антиоксидантної системи у порівнянні з інтактними тваринами.

Таблиця 3.10

Коефіцієнти оксидативного стресу на моделі експериментального бактеріального риніту в інтраназальних змивах та сироватці крові експериментальних тварин контрольної патології, 3-я та 14-а доба ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$)

Показники	3-я доба	14-а доба
інтраназальні змиви	7,7±1,69	3,72±1,48*
сироватка крові	15,48±2,05	9,64±1,11*

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ у порівнянні між показниками 3-ої та 14-ої доби в групі контрольної патології;

2. n – кількість тварин у групі, 10.

За показником коефіцієнту оксидативного стресу у інтраназальних змивах спостерігається висока ступінь його зсуву як на 3-ю добу, так і 14-у добу. Коефіцієнт 7,7 свідчить про достовірне відтворення експериментальної патології та про серйозні порушення з боку системи ПОЛ та АОЗ. До 14-ї доби спостерігається певна позитивна динаміка коефіцієнтів оксидативного стресу до зниження, що свідчить про включення механізмів компенсації тканини слизової оболонки носа. Проте встановлено недостатню потужність таких систем.

Більш серйозні наслідки порушення системи ПОЛ та АОЗ внаслідок бактеріальної інфекції тканини спостерігали в сироватці крові, зсуви в якій значно перевищували коефіцієнт оксидативного стресу в інтраназальних змивах. Проте і в цьому випадку констатували подібну динаміку до зниження коефіцієнту, тобто включення компенсації ступеня порушення системи ПОЛ та АОЗ.

За показниками коефіцієнту оксидативного стресу при експериментальному бактеріальному риніті встановлено високий ступінь порушення системи ПОЛ та АОЗ, при цьому на системному рівні у порівнянні з місцевим рівнем такі зсуви були більш вираженими – у 2,0 рази на 3-ю добу та у 2,59 рази на 14-у добу експерименту. Такі дані доводять не тільки розвиток оксидативного стресу, але і демонструють декомпенсований стан системи ПОЛ та

АОЗ навіть наприкінці 14-денного спостереження внаслідок бактеріального риніту.

Таким чином, достовірно встановлено, за показником коефіцієнту оксидативного стресу, високий ступінь порушення системи ПОЛ та АОЗ при різних видах ринітів (хімічному та бактеріальному) на 3-ю добу на місцевому та системному рівнях розвитку патології. Доведено, що до кінця терміну спостереження потужність компенсаторних механізмів була недостатньою, що проявлялося високим коефіцієнтом оксидативного стресу при обох видах ринітів на місцевому та системному рівнях. При цьому ступінь порушення системи ПОЛ та АОЗ був більш вираженою при бактеріальному експериментальному риніті за показниками сироватки крові, тобто на системному рівні у порівнянні з хімічним.

У цілому, отримані дані свідчать про важливу роль вільнорадикальних процесів у патогенезі ринітів різного походження. Можна зауважити, що при бактеріальному риніті спостерігали найбільш виражені зсуви в плазмі крові як первинних продуктів ПОЛ – ДК, так і вторинних – ТБК у порівнянні з хімічним ринітом.

Висновки до розділу 3.

1. Отримані дані свідчать про те, що в патогенезі ринітів суттєве значення мають порушення в системі ПОЛ/АОЗ. Такі порушення проявляються в збільшенні рівня первинних і вторинних продуктів ПОЛ в інтраназальних змивах і сироватці крові. Підвищення рівня ПОЛ відбувалося на початку експерименту і зберігалось протягом 2-х тижнів при обох видах риніту на місцевому та загальному рівнях.

2. При хімічному риніті за показниками ПОЛ на 14-у добу в інтраназальних змивах рівень ТБК-продуктів достовірно зберігався на високому рівні та перевищував показники інтактної групи на 251% ($p<0,05$), ДК – на 150,3% ($p<0,05$); у сироватці крові рівень ТБК-продуктів підвищений на 216,1% ($p<0,05$), ДК – на 168,3% ($p<0,05$). На моделі бактеріального риніту в експериментальних тварин рівень ДК та ТБК-продуктів у інтраназальних змивах

залишався на 14-у добу на 140,5% ($p < 0,05$) та 247,0% ($p < 0,05$) більше, ніж у контролі. Подібна ситуація була й у сироватці крові: вміст ДК перевищував контроль на 159,6% ($p < 0,05$); ТБК-продуктів – на 216,1% ($p < 0,05$).

3. Встановлено, що до кінця терміну спостереження потужності власної АОЗ при моделюванні хімічної травми носової порожнини було недостатньо для компенсації вираженого окисного стресу. Активність Кат була знижена на 23,4% ($p < 0,05$) та 34,8% ($p < 0,05$) та ВГ на 26,2% ($p < 0,05$) та 34,5% ($p < 0,05$) відповідно в інтраназальних змивах та у сироватці крові на 14-у добу дослідження. Рівень показників АОЗ при бактеріальному риніті залишався низьким протягом усього експерименту (до 14-ї доби), за винятком активності каталази: в інтраназальних змивах вона підвищилася на 14-у добу на 126,7% ($p < 0,05$) по відношенню до інтактного контролю, тоді як у сироватці крові активність Кат залишалася на некомпенсованому рівні й недостатність її становила 45,8% ($p < 0,05$). Рівень ВГ був нижчим в інтраназальних змивах та у сироватці крові – на 26,2% ($p < 0,05$) та 33,98% ($p < 0,05$) відповідно. Це свідчить про неможливість власної АОЗ експериментальних тварин компенсувати порушення прооксидантно-антиоксидантного стану.

4. Встановлено високий ступінь порушення системи ПОЛ та АОЗ при різних видах риніту (хімічному та бактеріальному). Показники збільшувались на 3-ю добу і залишались високими до 14-ї доби при обох видах риніту. Доведено, що до кінця терміну спостереження потужність компенсаторних механізмів була недостатньою, що проявлялося високим коефіцієнтом оксидативного стресу (КОС) при обох видах ринітів на місцевому та системному рівнях, що свідчить про високий ступінь порушення прооксидантно-оксидантної рівноваги. Варто зазначити, що КОС був більш виражений при бактеріальному експериментальному риніті за показниками сироватки крові на 113% ($p < 0,05$), тобто на системному рівні у порівнянні з хімічним ринітом.

Список публікацій здобувача:

1. Крижна С.І., Київська Ю.О., Тюпка Т.І., Козар В.В. Дослідження пливу гелю «Імбирол» на показники ПОЛ та АОС слизової носу щурів при моделюванні

травматичного риніту. Вісник проблем біології і медицини. – 2017. – Вип.4, Т.3(141). – С. 150-153.

2. Kryzhna S.I., Kievskaya Yu.A., Tyupka T.I., Kozar V.V. Application of natural antioxidants in the composition of gel "Imbirol" for rhinitis of different genesis. Journal of education, health and sport. Vol.2, №3, 2018. P. 47-50.

3. Київська Ю.О., Крижна С.І. Визначення коефіцієнту оксидативного стресу при експериментальному хімічному риніті. Національний фармацевтичний університет, м. Харків, I наукова-практична інтернет-конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція» (18 жовтня 2018р.) -Х.: Вид-во НФаУ, 2018. -276с. стр 133-134.

4. Крижна С.І., Київська Ю.О., Тюпка Т.І., Козар В.В. Дослідження стану оксидативного стресу при експериментальних ринітах різного генезу. Вісник проблем біології і медицини. – 2019. – Вип.1, Т.1(148). – С. 133-137.

РОЗДІЛ IV

ДОСЛІДЖЕННЯ ІМУННОГО СТАТУСУ ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ РИНИТОМ РІЗНОГО ГЕНЕЗУ

4.1. Стан клітинного та гуморального імунітету при експериментальному хімічному риніті

У даний час ми наблизилися до нового рівня розуміння взаємозв'язку між розвитком запалення і оксидативного стресу, як проявами вродженої та адаптивної імунної відповіді. Однак в цій проблемі залишається поки багато білих плям і спірних питань.

Запальний і оксидативний процеси є компонентом будь-якої патології, включаючи риніти, бо виникають при пошкодженні тканин і є факторами як руйнування, так і захисту та загоєння. З іншого боку, цитокіни є стимуляторами імунних клітин і продукції ними кисневих радикалів [155]. Багато в чому залишається також неясним, що визначає тривалість запалення і оксидативного стресу, як вони реалізуються, і які дії можуть визначити їх попередження або усунення.

Встановлено, що одним з найважливіших патогенетичних механізмів розвитку риніту є активація імунної відповіді, інтенсивна міграція Т-лімфоцитів у слизову оболонку носа та судинну стінку. В основі цих явищ лежить здатність організму викликати розвиток імунної запальної відповіді, як вродженого, так і набутого характеру [59, 61]. Як відомо, захист організму визначають неспецифічні фактори та імунологічна реактивність, або імунна відповідь.

Назально-асоційована лімфоїдна тканина (NALT – nasal-associated lymphoid tissue) є індукційною ділянкою слизової оболонки верхніх дихальних шляхів, де імунну відповідь реалізують представники імунної системи: Т- і В-клітини, їх популяції і субпопуляції, забезпечуючи реалізацію імунної відповіді на території лімфоїдної тканини слизових оболонок. Місцевий імунітет слизової оболонки носа є початковою лінією захисту організму. Підслизова назальна, як і інша

мукозо-асоційована імунна система, містить лімфоїдну інфільтрацію Т-хелперів, Т-супресорів і сукупність плазматичних клітин, здатних синтезувати IgG, IgM, IgA. Клітини епітелію порожнини носа здатні виробляти неспецифічні фактори захисту, зокрема, бактерицидні та бактеріостатичні речовини – лізоцим, лактоферин, інтерферони тощо, відіграючи значну роль у місцевому захисті. Епітелій – це імунологічна сутність, яка, крім секреторних клітин, складається з мастоцитів (тканинних базофілів), лімфоцитів та макрофагів. Епітелій здатний синтезувати також секреторний компонент і дозволяє транспортувати сироваткові IgA і IgM у секрет. Основна увага в публікаціях, присвячених з'ясуванню ролі місцевої несприйнятливості, приділена факторам специфічного імунітету, а саме вмісту різних класів імуноглобулінів в секретах MALT [47, 155]. Що стосується дослідження стану імунологічної резистентності, як специфічної, так і вродженої, в секретах NALT у відповідь на хімічні чи біологічні чинники, таких досліджень в літературі вкрай мало. Тому вивчення механізмів місцевого імунітету слизової оболонки носу, які в першу чергу включаються в захист організму від різних назальних антигенних впливів, дозволить не тільки більш повно представити патогенез захворювань, але і розробити раціональні методи терапії і профілактики.

На цьому етапі нашого дослідження з імунологічних показників визначали:

1. В назальному змиві – лізоцим, фагоцитарну активність нейтрофілів, метаболічну активність нейтрофілів (НСТ-тест), активність натуральних (вроджених) кілерних клітин (НКК).

2. В крові: титр гетерофільних аглютининів та гемолізину.

На моделі експериментального хімічного риніту, що викликався нанесенням їдкого натрію у кожну ніздрю тварин, ми дослідили перебіг стану імунологічної резистентності на 3-ю доба та наприкінці терміну спостереження (14-й день). В експерименті використовували щурів, яких розподіляли на дві групи: інтактного контролю та досліджуваної патології.

Результати дослідження рівня лізоциму в інтраназальних змивах в умовах хімічного риніту наведені в таблиці 4.1.

Отримані результати дозволили встановити порушення стану імунологічного захисту слизової оболонки у тварин з експериментальним хімічним ринітом. Одним з перших таких показників є рівень лізоциму (мурамідази), який є ферментом класу гідролаз та одним із найдавніших факторів неспецифічного захисту організму, що приймає активну участь в процесах регуляції місцевого імунітету.

Таблиця 4.1

Рівень лізоциму (мкг/мг білка) в інтраназальному змиві щурів із експериментальним хімічним ринітом, ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$)

Термін дослідження, доба	I – інтактні щури	II – хімічний риніт
3-я	46,41±3,12	31,2±3,92*
14-а	48,13±3,16	37,2±4,33*

Примітки:

- * – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі інтактних тварин;
- n – кількість тварин у групі, 10.

Так, показники цього ферменту в інтраназальних змивах у щурів із експериментальним хімічним ринітом знизилися на 3-ю добу після відтворення риніту на 32,8% у порівнянні з інтактними тваринами, що відповідає клінічній картині гострого запалення, що характерно для гострого запалення. При цьому повного відновлення секреції лізоциму не відбулося наприкінці експерименту, його недостатність на 14-у добу дослідження становила 22,7%, що свідчило про недостатність імунологічних механізмів компенсації на фоні виражених процесів пошкодження тканини експериментальним шляхом, $p < 0,05$. Можливо, такі зміни є результатом стресу, в основі якого лежить відомий імуносупресивний ефект кортикостероїдів, та/або недостатнім відновленням місцевих бактерицидних факторів слизової оболонки носу в результаті запально-деструктивних процесів при моделюванні ринітів.

Одним із важливих механізмів елімінації патогенів є фактори неспецифічного імунного захисту. Суттєвим фактором неспецифічної резистентності організму є фагоцитарна активність клітин, до яких належать гранулоцити – перша лінія неспецифічного протимікробного захисту, від активності якої залежить елімінація активаторів. Активовані гранулоцити потенційно токсичні для навколишніх (оточуючих) клітин за рахунок дегрануляції і виходу в навколишнє середовище великої кількості ферментів, метаболітів кисню та інших біологічно активних речовин, спроможних викликати значні пошкодження навколишніх тканин. Адгезія, хемокінез і хемотаксис фагоцитів, вивільнення вмісту гранул, дихальний вибух та метаболічна активність, що супроводжує ці ефекти, можуть бути ініційовані різноманітними біологічними чи хімічними стимулами. У зв'язку з важливою роллю фагоцитозу в очищенні організму від генетично чужорідних речовин та участю у виникненні і підтриманні патологічних процесів, є важливим визначення показників цієї ланки неспецифічної імунної відповіді при ринітах різної етіології.

Результати визначення показників фагоцитарної та метаболічної активності нейтрофілів у інтраназальному змиві щурів із експериментальним хімічним ринітом подані у таблиці 4.2.

Фагоцитарна активність нейтрофілів та їх поглинаюча здатність були зниженими при моделюванні риніту, що свідчить про пригнічення функції фагоцитів. Так, ФІ та ФЧ в інтраназальних змивах у щурів із експериментальним хімічним ринітом знизилися на 3-ю добу після відтворення риніту на 9,1% та 14,6% відповідно у порівнянні з інтактними тваринами. На кінець експерименту спостерігали також пригнічений стан здатності нейтрофілів до фагоцитозу та їх поглинаючої активності: на 14-у добу показники ФІ мали ще більш виражену негативну динаміку, їх недостатність становила вже 16,3%. Недостатність показників ФЧ була стабільною впродовж усього експерименту та становила на 14-ю добу 13,6%.

Встановлено, що експериментальний хімічний риніт супроводжується активацією метаболічної активності нейтрофілів (НСТ-тест), що вказує на значну активацію нейтрофілів, яка може бути однією із причин оксидативного стресу, та

незавершеність запалення в слизовій оболонці по закінченню експерименту. Такий стан у сукупності з іншими чинниками може бути фактором, що визначає тривалість як запалення, так і оксидативного стресу.

Таблиця 4.2

Показники фагоцитарної та метаболічної активності нейтрофілів в інтраназальному змиві щурів із експериментальним хімічним ринітом

$$(\bar{X} \pm S_{\bar{X}})$$

Показники	I – інтактні щури	II – хімічний риніт
3-я доба експерименту		
ФІ, %	41,19±1,42	37,43±1,44*
ФЧ, од.	2,19±0,07	1,87±0,06*
НСТ, %	11,05±0,38	18,22±0,39*
14-а доба експерименту		
ФІ, %	42,2±1,14	35,3±1,60*
ФЧ, од.	2,20±0,05	1,90±0,07*
НСТ, %	11,2±0,4	16,3±0,4*

Примітки:

- * – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі інтактних тварин;
- n – кількість тварин у групі, 10.

Результати проведених досліджень показали, що показники НСТ-тесту в інтраназальних змивах у щурів із експериментальним хімічним ринітом підвищилися на 3-ю добу після відтворення риніту – на 64,9% у порівнянні з інтактними тваринами.

Наприкінці експерименту показники НСТ-тесту залишалися високими та перевищували норму на 45,5%, що вказує на значну активацію нейтрофілів, яка може бути однією із причин оксидативного стресу, та незавершеність запалення в слизовій оболонці по закінченню експерименту.

До клітинних елементів слизової оболонки носу відносяться також натуральні кілерні клітини (NK), які є одним із важливих компонентів клітинного вродженого імунітету. NK-клітини виконують цитотоксичні та цитокін-продукуючі функції. Головними функціями NK-клітин є розпізнавання та елімінація клітин, інфікованих мікроорганізмами, змінених в результаті злоякісного росту або опсонізованих IgG-антитілами. Ефекторні функції NK-клітин включають дегрануляцію азурофільних гранул, де депоновані цитотоксичні білки перфорин, гранізин та гранулізин, та продукцію цитокінів [інтерферонів (IFN) гамма (IFN- γ) та альфа (IFN- α), ФНПа, ІЛ-8, ІЛ-5 та ін.] [98, 105].

Інкубація виділених у градієнті густини (1,062-1,064) клітин назального секрету із клітинами-мішенями (клітини лінії Нер-2 – раку гортані людини) з наступною спектрофотометрією супернатанту та розрахунком індексу цитотоксичності показала, що експериментальний хімічний риніт супроводжується зниженням активності NK-клітин в інтраназальних змивах у щурів на 3-ю добу після відтворення риніту – на 23,6% у порівнянні з інтактними тваринами (табл. 4.3).

Слід зазначити, що така ж ситуація спостерігалася й наприкінці терміну спостереження. Так, на 14-у добу активність NK залишалася зниженою на 19,6% у групі з ринітом по відношенню до інтактної групи.

Таблиця 4.3

Індекс цитотоксичності натуральних кілерів (%) в інтраназальному змиві щурів із експериментальним хімічним ринітом ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)

Терміни дослідження, доба	I – інтактні щури	II – хімічний риніт
3-я	35,11 \pm 6,18	26,83 \pm 6,88*
14-а	36,2 \pm 7,81	29,1 \pm 7,91*

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі інтактних тварин;
2. n – кількість тварин у групі, 10.

Нормальні антитіла (АТ), до яких належать гемолізини та гетерофільні аглютиніни, відносять до гуморальної ланки неспецифічної резистентності організму. Вони виявляються в низьких титрах у сироватці крові, їх ще називають антитілами інакшої специфічності, синтез яких, зазвичай, йде паралельно індукції специфічних антитіл. Хоча активація кожного з клону клітин, які утворюють антитіла інакшої специфічності, йде в малих об'ємах, в сумі вони дають звичайно велику частину імуноглобулінів, що синтезуються. Ці АТ низькоспецифічні, але здатні перехресно реагувати з широким спектром антигенів. Природні АТ викликають аглютинацію бактерій, їх руйнування (в присутності комплементу), нейтралізують віруси і токсини, а також стимулюють фагоцитарні реакції (через опсонізацію збудників). Це обумовлює постійну присутність в організмі невеликих кількостей нормальних (природних) антитіл фактично до всіх існуючих антигенів. Їх наявність є показником ступеня імунологічної зрілості організму та нормального функціонування імунної системи [107]. Тому визначення природних антитіл різної специфічності є важливим для оцінки впливу на організм різних чинників, хімічних чи біологічних.

Результати визначення показників рівня гемолізинів та гетерофільних аглютининів в сироватці крові щурів із експериментальним хімічним ринітом наведені у табл. 4.4.

Визначення антитіл – гемолізинів та гетерофільних аглютининів – в сироватці крові щурів із експериментальним ринітом показало, що патологічний процес в носі, викликаний хімічним фактором, супроводжувався зниженням рівня природних антитіл. Так, рівень ГЛ та ГА був зниженим в сироватці крові у щурів із експериментальним хімічним ринітом на 3-ю добу після відтворення риніту на 20,9% та 27,2% відповідно у порівнянні з інтактними тваринами.

Подібна ситуація зберігалася у цих тварин й наприкінці періоду спостереження, і на 14-у добу рівень ГЛ та ГА залишався зниженим на 17,1% та 24,3% відповідно.

Одже, проведені дослідження дозволили встановити, що експериментальний хімічний риніт супроводжується активацією метаболічної активності нейтрофілів

(НСТ-тест) не тільки на початку експерименту, але й наприкінці терміну спостереження – на 45,5%, що обумовлює та підтримує оксидативний стрес, та незавершеність запалення в слизовій оболонці.

Таблиця 4.4

Рівень гемолізинів та гетерофільних аглютининів (титр) в сироватці крові щурів із експериментальним хімічним ринітом ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)

Показники	I – інтактні щури	II – хімічний риніт
3-я доба експерименту		
ГЛ	4,31±0,45 [#]	3,41±0,55 ^{a)}
ГА	2,39±0,37	2,11±0,29 ^{a)}
14-а доба експерименту		
ГЛ	4,61±0,51 [#]	3,82±0,52 ^{a)}
ГА	2,51±0,34 [#]	1,90±0,31 ^{a)}

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі інтактних тварин;
2. ^{a)} – тенденція ($0,1 > p > 0,05$) у порівнянні з показником в групі інтактних тварин;
3. n – кількість тварин у групі, 10.

Таке підвищення метаболічної активності відбувалося на фоні пригнічення здатності слизової оболонки носу виробляти неспецифічні фактори захисту, зокрема, лізоцим як бактеріостатичну речовину, що погіршувало стан місцевого захисту. Недостатність лізоциму на 14-у добу дослідження становила 22,7%, що свідчило про недостатність імунологічних механізмів компенсації на фоні виражених процесів пошкодження тканини експериментальним шляхом.

Перебіг хімічного риніту відбувався також на фоні зниження у фагоцитів функцій розпізнавання та елімінації клітин, змінених в результаті запалення. Так, за показником активності НК-клітин, такі функції були знижені на початку експерименту на 23,6%, а наприкінці – на 19,6%. Ці дані свідчать про порушення

цитотоксичної та цитокін-продукуючої [інтерферонb (IFN) гамма (IFN- γ) та альфа (IFN- α), ФНПа, ІЛ-8, ІЛ-5 та ін.) функцій на початку та наприкінці експерименту.

Подібна динаміка спостерігалася з боку і гуморальної ланки неспецифічної резистентності організму, до якої належать гемолізину та гетерофільні аглютиніни. Показники ступеня імунологічної зрілості організму та нормального функціонування імунної системи залишалися зниженими – ГЛ на 17,1%, ГА на 24,3% – наприкінці експерименту. Отримані дані вказують на те, що в крові також спостерігаються зміни вроджених факторів, зокрема, гуморального імунітету у щурів із експериментальним хімічним ринітом у порівнянні з інтактними тваринами. При цьому перебіг експериментального хімічного риніту відбувався на фоні значної активації метаболічної активності нейтрофілів та пригнічення фагоцитарної функції нейтрофілів, активності НК-клітин та гуморальної ланки неспецифічної імунної відповіді. У сукупності такі зміни приводять до підтримання оксидативного стресу та незавершеності запалення в слизовій оболонці наприкінці експерименту. Слід також зазначити, що це свідчить про недостатність механізмів компенсації імунної системи в досліджувані терміни на моделі експериментального хімічного риніту.

4.2. Стан клітинного та гуморального імунітету при експериментальному бактеріальному риніті

На даному етапі експериментального дослідження проведено визначення показників клітинного та гуморального імунітету на моделі бактеріального риніту. Експериментальну модель бактеріального риніту відтворювали шляхом інтраназального одноразового введення добової культури музейного штаму *Staphylococcus aureus* (у кожний носовий хід). В експерименті використовували щурів, яких розподіляли на групи інтактного контролю та досліджуваної патології (бактеріальний риніт).

Результати визначення рівня лізоциму у інтраназальних змивах на моделі бактеріального риніту подані у таблиці 4.5.

Таблиця 4.5

Рівень лізоциму (мкг/мг білка) в інтраназальному змиві щурів із експериментальним бактеріальним ринітом ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$)

Терміни дослідження, доба	I – інтактні щури	II – бактеріальний риніт
3-я	47,37±2,91 [#]	29,48±4,11*
14-а	48,4±3,63	34,7±5,14*

Примітки:

- * – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі інтактних тварин;
- n – кількість тварин у групі, 10.

Результати дослідження рівня лізоциму в інтраназальних змивах показали, що у щурів із експериментальним ринітом бактеріального генезу знизилася секреція лізоциму у порівнянні з інтактними тваринами як на 3-ю добу – на 37,8%, так і на 14-у добу – на 28,3%, що може бути обумовлене стресом, в основі якого лежить відомий імуносупресивний ефект кортикостероїдів та/або недостатнім відновленням місцевих бактерицидних факторів слизової оболонки носу в результаті запально-деструктивних процесів при моделюванні ринітів.

Наступним фактором неспецифічного імунного захисту, що вивчалася, була фагоцитарна активність гранулоцитів, що визначає активність системи гуморально-клітинної кооперації. Результати визначення таких показників у інтраназальному змиві щурів із експериментальним бактеріальним ринітом наведені у табл. 4.6.

За показниками ФІ та ФЧ, перебіг бактеріального експериментального риніту супроводжувався супресією фагоцитозу як на початку, так і наприкінці експерименту у тварин із досліджуваною патологією. Так, на 3-ю добу ФІ та ФЧ у цих тварин були знижені на 27,95% та 13,2% відповідно. Така картина була і на 14-у добу експерименту – 24,2% та 31,8% відповідно.

Більш того, зміна показників ФЧ мала виражену негативну динаміку, оскільки його зниження становило на 3-я доба 13,2%, а на 14-у добу – вже 31,8%. Оскільки однією із основних функцій нейтрофілів є здійснення фагоцитозу –

процесу, який призводить до перетравлювання частинок і складається з етапів адсорбції, поглинання і деградації, то порушення фагоцитарної здатності нейтрофілів будуть спричинювати персистенцію патогену в організмі та подальший розвиток патологічного процесу.

Таблиця 4.6

Показники фагоцитарної та метаболічної активності нейтрофілів в інтраназальному змиві щурів із експериментальним бактеріальним ринітом

$$(\bar{X} \pm S_{\bar{X}})$$

Показники	I – інтактні щури	II – бактеріальний риніт
3-я доба експерименту		
ФІ, %	42,21±1,14	30,41±1,17*
ФЧ, од.	2,20±0,07	1,91±0,04*
НСТ, %	11,21±0,4	13,17±0,35
14-а доба експерименту		
ФІ, %	42,20±1,14	32,0±1,16*
ФЧ, од.	2,20±0,05	1,50±0,03*
НСТ, %	11,20±0,4	19,30±0,6*

Примітки:

- * – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі інтактних тварин;
- n – кількість тварин у групі, 10.

Встановлено, що експериментальний бактеріальний риніт супроводжується активацією метаболічної активності нейтрофілів (НСТ-тест). Так, на 3-ю добу риніту вона підвищилася на 17,5%, а на 14-у добу аж на 72,3%, що вказує на значну активацію нейтрофілів, яка може бути однією із причин оксидативного стресу, та незавершеність запалення в слизовій оболонці наприкінці експерименту. Слід також зауважити, що бактеріальний риніт супроводжувався більш значною метаболічною активністю нейтрофілів наприкінці експерименту,

ніж хімічний, що свідчить про інтенсивніший запальний процес, та, можливо, деструктивні процеси в результаті дихального вибуху нейтрофілів при даній формі риніту і посилення процесів ПОЛ протягом спостереження.

Результати дослідження активності натуральних кілерів в інтраназальному змиві щурів із експериментальним бактеріальним ринітом подані у таблиці 4.7.

Таблиця 4.7

Індекс цитотоксичності натуральних кілерів (%) в інтраназальному змиві щурів із експериментальним бактеріальним ринітом ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)

Термін дослідження, доба	I – інтактні щури	II – бактеріальний риніт
3-я	36,21±7,82	28,23±6,48*
14-а	36,21±7,81	24,6±7,82*

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі інтактних тварин;
2. n – кількість тварин у групі.

Проведені дослідження клітинних елементів слизової оболонки носу – натуральних кілерних клітин (НК) – дозволили встановити, що перебіг експериментального бактеріального риніту супроводжується зниженням активності клітин на 3-ю добу експерименту – на 22,04%. Така картина спостерігалася і на 14-у добу, причому зниження становило вже 67,93%, що свідчить про посилення супресії імунних клітин за умов відтворення бактеріального риніту.

Визначення рівня гемолізинів та гетерофільних аглютинінів дозволило встановити ступінь порушення гуморальної ланки неспецифічної резистентності організму. Результати визначення показників рівня гемолізинів та гетерофільних аглютинінів в сироватці крові щурів із експериментальним бактеріальним ринітом подані у таблиці 4.8.

Визначення антитіл – гемолізинів та гетерофільних аглютинінів – в сироватці крові щурів із експериментальним бактеріальним ринітом показало, що

патологічний процес в носі, викликаний бактеріологічним фактором, супроводжувався зниженням рівня природних антитіл.

Так, на 3-ю добу експерименту рівень ГЛ та ГА в сироватці крові щурів із експериментальним бактеріальним ринітом був знижений на 24,83% та 21,3% відповідно. На 14-у добу спостерігали ще більш виражене пригнічення продукції ГЛ і ГА – на 21,04% та 35,45%, що характеризувало недостатність гуморальної ланки імунітету за умов бактеріального пошкодження.

Таблиця 4.8

Рівень гемолізинів та гетерофільних аглютининів (титр) в сироватці крові щурів із експериментальним бактеріальним ринітом ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)

Показники	I – інтактні щури	II – бактеріальний риніт
3-я доба експерименту		
ГЛ	4,51±0,35 [#]	3,39±0,38*
ГА	2,44±0,31 [#]	1,92±0,19*
14-а доба експерименту		
ГЛ	4,61±0,51 [#]	3,64±0,33*
ГА	2,51±0,34 [#]	1,62±0,41*

Примітки:

- * – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі інтактних тварин;
- n – кількість тварин у групі, 10.

Таким чином, проведені дослідження дозволили встановити, що експериментальний бактеріальний риніт супроводжується пригніченням фагоцитарної активності нейтрофілів (ФІ) – на 27,95% на початку та на 24,2% наприкінці експерименту; та за рахунок негативної динаміки пригнічення поглинаючої здатності (ФЧ) – з 13,2% на 3-ю добу до 31,8% на 14-у добу.

При цьому таке пригнічення відбулося на тлі вираженої активації метаболічної активності нейтрофілів (НСТ-тест) – на 17,5% на початку та 72,3%

наприкінці терміну спостереження, що слід трактувати як «метаболічний вибух». Такі показники обумовлюють та підтримують оксидативний стрес та незавершеність запалення в слизовій оболонці.

У цілому, підвищення метаболічної активності відбувалося на фоні пригнічення здатності слизової оболонки носу виробляти неспецифічні фактори захисту, зокрема, лізоцим, як бактеріостатичну речовину, що погіршувало стан місцевого захисту. Недостатність лізоциму на 14-у добу дослідження становила 28,3%, що свідчило про недостатність імунологічних механізмів компенсації на фоні виражених процесів пошкодження тканини експериментальним шляхом.

Перебіг бактеріального риніту відбувався також на фоні зниження у фагоцитів функцій розпізнавання та елімінації клітин, змінених в результаті запалення, що приводить до порушення системи гуморально-клітинної кооперації. Так, за показником НК-клітин, ці функції були пригніченими наприкінці експерименту на 67,93%. При чому зниження активності НК-клітин мало різко виражений характер: з 22,04% на початку до 67,93% наприкінці експерименту. Такі дані свідчать про порушення цитотоксичної та цитокін-продукуючої (інтерферони (IFN) гамма (IFN- γ) та альфа (IFN- α), ФНПа, ІЛ-8, ІЛ-5 та ін.) функцій під час експерименту, що може обумовлювати персистенцію патогену в організмі та пролонгацію патологічного процесу.

Подібна динаміка спостерігалася і з боку гуморальної ланки неспецифічної резистентності організму, до якої належать гемолізину та гетерофільні аглютиніни. Показники ступеня імунологічної зрілості організму та нормального функціонування імунної системи були зниженими: титр ГЛ – на 24,83% на 3-ю добу та на 21,04% на 14-у добу; зміни титру ГА мали негативну динаміку, про що свідчать зміни показника з 21,31% на початку до 35,45% наприкінці експерименту.

Слід зазначити, що бактеріальний риніт у порівнянні з хімічним характеризувався більш значно вираженою метаболічною активністю нейтрофілів наприкінці експерименту на зразок «метаболічного вибуху», характеризувався більш вираженим пригніченням інших показників клітинної (фагоцитоз,

активність НК-клітин), а також гуморальної ланок неспецифічної імунної відповіді, яке мало характер зростаючої недостатності до кінця терміну спостереження. Такий перебіг бактеріального риніту у порівнянні з хімічним свідчить про більш інтенсивніший запальний процес, та, можливо, деструктивні процеси в результаті дихального вибуху нейтрофілів при даній формі риніту і посилення процесів ПОЛ протягом спостереження.

Висновки до розділу 4

1. Показано, що в патогенезі експериментальних гострих хімічного та бактеріального ринітів у щурів суттєве значення мають порушення стану неспецифічної ланки імунної відповіді. Так при хімічному риніті порушення проявляються активацією метаболічної активності нейтрофілів (НСТ-тест) – до 14-ї доби експерименту на 45,5% ($p < 0,05$) – та зниженням інших показників клітинної, а також гуморальної ланки: на 14-у добу недостатність лізоциму становила 22,7% ($p < 0,05$), ФІ – 16,3% ($p < 0,05$), ФЧ – 13,6% ($p < 0,05$), НК – 19,6% ($p < 0,05$), ГЛ – 17,1% ($p < 0,05$), ГА – 24,3% ($p < 0,05$). При бактеріальному риніті метаболічна активність нейтрофілів (НСТ-тест) – до 14-ї доби експерименту на 72,3% ($p < 0,05$) та зниженням інших показників клітинної, а також гуморальної ланки: на 14-у добу недостатність лізоциму становила 28,3% ($p < 0,05$), ФІ – 24,2% ($p < 0,05$), ФЧ – 31,8% ($p < 0,05$), НК – 67,9% ($p < 0,05$), ГЛ – 21% ($p < 0,05$), ГА – 35,5% ($p < 0,05$).

2. Означені зміни вказують на формування та підтримання оксидативного стресу за рахунок «метаболічного вибуху», який обумовлює незавершеність запалення в слизовій оболонці та неспроможність самостійного відновлення активності клітинної та гуморальної ланок неспецифічного імунітету на місцевому і системному рівнях. Такі порушення відбувалися на початку експерименту і реєструвалися протягом усього спостереження.

3. Отримані дані свідчать, що у патогенезі обох експериментальних ринітів важлива роль належить порушенням з боку клітинної та гуморальної ланок неспецифічного імунітету на місцевому і системному рівнях. Ступінь дисбалансу

в імунній системі був вищим при моделюванні бактеріального риніту, що характеризувався більш вираженою метаболічною активністю нейтрофілів наприкінці експерименту за рахунок «метаболічного вибуху» – у 1,2 раза у порівнянні з хімічним ринітом, більш вираженим пригніченням інших досліджуваних показників неспецифічної імунної відповіді. Такий перебіг бактеріального риніту у порівнянні з хімічним свідчить про більш інтенсивніший запальний процес та, можливо, деструктивні процеси в результаті дихального вибуху нейтрофілів при даній формі риніту і посилення процесів ПОЛ протягом спостереження. Зміни параметрів спостерігаються при відтворенні експериментальних ринітів на 3-ю добу та 14-у добу. Встановлено, що гіперметаболічна активність нейтрофілів на моделях експериментальних ринітів приводила, з одного боку, до виділення вільних форм кисню та розвитку оксидативного стресу, а з іншого, – викликала пригнічення показників лізоциму, ФІ, ФЧ, НК, ГЛ, ГА, та приводило до незавершеності запалення в слизовій оболонці та неспроможності самостійного відновлення активності імунної системи.

Список праць, опублікованих за темою глави:

1. Крижна С.І., Київська Ю.О., Козар В.В. Стан імунологічної резистентності в умовах експериментального бактеріального риніту та його фармакологічної корекції. Вісник проблем біології і медицини. – 2018. – Вип.1, Т.2(143). – С. 137-140.
2. Крижна С.І., Київська Ю.О., Козар В.В. Стан клітинної та гуморальної ланок імунітету в умовах експериментального риніту та його фармакологічної корекції. Вісник проблем біології і медицини. – 2018. – Вип.2, Т.3(144). – С. 144-147.
3. «Ступінь порушення імунітету в умовах експериментального риніту» тези у збірнику конференції «Здобутки клінічної та експериментальної медицини». 2018. С. 34-35.
4. Інформаційний лист № 141-2018 МОЗ України, Укрмедпатентінформ «Комплекс ефірних олій як потенційний коректор неспецифічного імунітету при ринітах різного генезу» Крижна С.І., Київська Ю.О.

5. S.I. Kryghna, O.I. Zalyubovska, T.I. Tiupka, Yu.A. Kievskaya. Features of the immune response in the experimental rhinitis and in the applying of gel "Imbirol". Conference "Theoretical and practical aspects of the use of biomedical markers in fundamental and applied medicine and biology. March 27-29 2018, Prague, The Czech Republic. Biomedical markers in fundamental and clinical medicine. Vol.2, №1, 2018. P. 75-76.
6. Kryzhna S.I., Kievskaya Yu.A., Tyupka T.I., Kozar V.V. APPLICATION OF NATURAL ANTIOXIDANTS IN THE COMPOSITION OF GEL "IMBIROL" FOR RHINITIS OF DIFFERENT GENESIS. Journal of education, health and sport. Vol.2, №3, 2018. P. 47-50.

РОЗДІЛ 5

ВПЛИВ ПРИРОДНИХ АНТИОКСИДАНТІВ НА ПОКАЗНИКИ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО ГОМЕОСТАЗУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ РИНИТАХ РІЗНОГО ГЕНЕЗУ

5.1. Обґрунтування складу гелю з комплексом ефірних олій та визначення його біологічної активності

Для дослідження впливу антиоксидантів на перебіг експериментальних ринітів нами було обрано, зокрема, розроблений у НФаУ гель, що містить комплекс ефірних олій з антиоксидантними властивостями, як такий, що може бути використаний у подальшому для лікування ринітів. У якості основних активних молекул гелю – комплекс ефірних олій з антиоксидантними властивостями, а саме: імбиру, шавлії мускатної, майорану та чайного дерева. Ефірна олія імбиру (*Olei Zingiber officinale*) має широкий спектр дії, а саме: протизапальну, зігріваючу, антисептичну, потогінну. Ефірна олія майорану (*Olei Majorana hortensis*) виявляє антибактеріальні, протигрибкові та антисептичні властивості, на підставі чого широко застосовується при лікуванні ринітів, запаленні пазух носа та ін. Ефірна олія шавлії мускатної (*Olei Salvia sclarea*) проявляє знеболюючу, виражену бактерицидну, антиоксидантну, антивірусну та протизапальну дії. Ефірна олія чайного дерева (*Olei Melaleuca alternifolia*) забезпечує анальгетичну, антиоксидантну, ранозагоювальну, виражену протівірусну та протизапальну дії [115, 116].

З технологічної точки зору на цьому етапі проведені дослідження щодо вибору гелеутворювача, за допомогою якого створено стабільну форму гелю з вмістом комплексу ефірних олій. При цьому обрано гель на гідрофільній основі, яка мала здатність забезпечувати досить тривалий контакт зі слизовою оболонкою носу, добре її зволожувала, не викликала спазму судин і, як наслідок, обумовлювала фармакологічну активність препарату [69, 123, 124, 130]. Таким вимогам відповідав в якості основи карбомер марки 934 Р (нейтралізатор –

трометамол), який має задовільні споживчі, фізико-хімічні та структурно-механічні властивості. Такі властивості гелеутворювача дозволили забезпечити наявність необхідних екструзійних властивостей (легке рівномірне нанесення на слизову оболонку носа, зручність у застосуванні).

На наступному етапі створення гелю проведені мікробіологічні дослідження щодо визначення оптимальних концентрацій активних фармацевтичних інгредієнтів (АФІ) [41]. Проводилися дослідження як окремо кожної ефірної олії так і комплексу олій із різним вмістом та концентраціями на наявність протимікробних властивостей по відношенню до різних культур мікроорганізмів. Встановлено наявність антимікробної активності по відношенню до всіх видів використаних мікроорганізмів *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*, а також по відношенню до дріжджоподібного грибу роду *Candida*.

Для розчину ефірних олій обрано солюбілізатор ПЕГ-40 ГРО для запобігання подразнюючої дії на місце нанесення – слизову оболонку порожнини носа. У якості комплексу консервантів обрані натрію бензоат та ніпагін. Новизна розробленого комплексного гелю захищена патентом України на корисну модель «Гель «Імбирол» для лікування захворювань верхніх дихальних шляхів» № 97061 від 25.02.2015 р., бюл. № 4 [5, 29].

Після теоретичного та експериментального обґрунтування складу гелю «Імбирол» було проведено низку фармакологічних досліджень щодо встановлення його біологічної активності. Так, визначення токсикологічних характеристик дозволило встановити середньо-смертельну дозу (LD_{50}) експрес-методом Пастушенко Т. В. на щурах: для внутрішньошлункового введення ця доза складає 5000 мг/кг, для наскірного шляху – 2810 мг/кг. Згідно з класифікацією токсичності речовин Сидорова К. К. [46, 67], гель «Імбирол» при пероральному введенні щурам відноситься до класу практично нетоксичних речовин ($5001 < LD_{50} < 15000$ мг/кг). Проведені також дослідження щодо визначення масових коефіцієнтів органів після загибелі тварин за умов дослідження гелю «Імбирол». З цією метою був проведений розтин, макроскопічний огляд внутрішніх органів тварин (печінки, серця, легенів, нирок,

наднирників, тимусу, сім'яників, селезінки) та визначалася їх абсолютна маса для подальшого розрахунку масових коефіцієнтів (МК) за формулою: $МК = m(\text{органу}) / M(\text{тварин}) \times 100\%$.

У подальшому проведено визначення місцевоподразнювальної дії гелю «Імбирол» при одноразовому нанесенні на шкіру на безпородних білих кролях самцях та самицях з масою тіла 2,0-2,5 кг за загальноприйнятою методикою. Встановлено, за ознаками шкірної реакції – еритематозні зміни, набряк, ознаки некрозу, – відсутність місцевоподразнювальної дії.

Визначення антиексудативної активності, як складової протизапальної дії гелю «Імбирол», проведено на моделях карагенінового, гістамінового та зимозанового набряку стопи щурів. Результати дослідження показали, що «Імбирол» проявляє помірну протизапальну активність на моделі карагенінового набряку – 43%, високу на моделі зимозанового набряку – 89%, та середню активність – 50% на моделі гістамінового набряку у порівнянні з вольтареном.

Зіставлення протизапальної активності речовин на моделях карагенінового та зимозанового набряків дозволяє визначити механізм антиексудативної дії. Інгібітори ЦОГ активні на моделі карагенінового набряку і слабо пригнічують зимозанове запалення, а інгібітори ліпоксигенази – навпаки. Інгібітори ліпази, такі, як дексаметазон, пригнічують обидва види запалення. Отже, протизапальна активність нового гелю «Імбирол» базується на попередженні утворення лейкотрієнів – продуктів ліпооксигеназного перетворення арахідонової кислоти.

5.2. Стан системи перекисного окислення ліпідів та антиоксидантного захисту за умов застосування гелю «Імбирол» та мазі «Піносол» при експериментальному хімічному риніті

Проведення низки досліджень щодо стану ПОЛ та АОЗ дозволило встановити достовірний розвиток певних зсувів та їх ступінь на експериментальній моделі хімічного риніту. Отримані результати вказують на необхідність подальшої досліджень з метою корекції – для попередження таких порушень та компенсації вже існуючих – за допомогою природних

антиоксидантів. Антиоксиданти мають здатність природно нормалізувати метаболізм пошкодженої тканини, майже не викликають системних ускладнень, за виключенням поодиноких випадків алергійних проявів, є нетоксичними та мають цілий спектр необхідних фармакологічних ефектів. Так, у якості безперечно препарату природного походження з антиоксидантними властивостями обрано гель «Піносол», який має лікувальні протизапальні та антиоксидантні властивості [23]. До його складу входять олія соснова та евкالیптова, ментол, тимол та токоферолу ацетат. Біологічний оксидант токоферол взаємодіє з продуктами або каталізаторами вільнорадикального окиснення, такими як гідроперекиси та активні радикали, і блокує каталізатори вільнорадикального окиснення – іони металів змінної валентності. Високий вміст олій різного походження обумовлює зволожуючу та антисептичну дії, що дозволяє пригнічувати бактерії і віруси, імуномодулюючу, антиоксидантну та інші види дій. Вибір наступного природного антиоксиданта – гелю «Імбирол» обумовлений низкою факторів, а саме створенням вітчизняної лікарської м'якої форми з лікувальними протизапальними, антиоксидантними та антимікробними властивостями та пролонгованою ефективністю, що доведено попередніми комплексними фармакологічними дослідженнями [5, 51-56].

Вивчення стану ПОЛ та АОЗ за умов застосування антиоксидантів здійснювали спочатку на експериментальній моделі хімічного риніту, який викликали їдким натром. Стан ПОЛ фіксували на 3-ю добу та наприкінці терміну спостереження (14-у добу). Отримані результати порівнювали з такими у інтактних тварин та у тварини, у яких не на застосовували антиоксиданти після викликання риніту. Результати визначення показників ПОЛ у інтраназальних змивах та сироватці крові подані у таблицях 5.1 та 5.2.

Застосування лікувальних засобів дозволило значно покращити показники ПОЛ як у інтраназальних змивах, так і у сироватці крові. Так, на 14-у добу експерименту у інтраназальних змивах при застосуванні гелю «Імбирол» показники ДК та ТБК-продуктів знизилися майже до рівня інтактних тварин - становили 112,5% та 111%, відповідно, від значень у інтактних щурів. Такі

результати достовірно не відрізнялися від показників інтактної групи. У сироватці крові при застосуванні гелю «Імбирол» рівень ДК знизився до 126,9%, ТБК-продуктів – до 113,0%.

Таблиця 5.1

Показники перекисного окислення ліпідів в інтраназальному змиві та сироватці крові щурів з експериментальним хімічним ринітом за умов лікування гелем «Імбирол» та маззю «Піносол», 3-я доба ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)

Показники	Групи			
	I – інтактні щури	II – хімічний риніт	III – хімічний риніт + «Імбирол»	IV – хімічний риніт + «Піносол»
ДК, мкмоль/л (інтраназальні змиви)	0,497±0,054#	0,817±0,029*	0,814±0,032*	0,818±0,030*
ТБК, мкмоль/л (інтраназальні змиви)	0,260±0,021#	0,697±0,040*	0,691±0,048*/#	0,693±0,028*/#
ДК, мкмоль/л (сироватка крові)	0,421±0,033#	0,733±0,034*	0,723±0,034*	0,729±0,029*
ТБК, мкмоль/л (сироватка крові)	0,489±0,036#	1,132±0,045*	1,039±0,032*	1,047±0,029*

Примітки:

- * – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі інтактних тварин;
- # – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі тварин з ринітом без лікування;
- n – кількість тварин у групі, 10.

Застосування лікувального засобу «Піносол» мало подібний ефект. Так, у інтраназальних змивах рівень ДК та ТБК-продуктів знизився під його впливом до

126,3% та 137,2%; у сироватці крові – до 152,8% та 132,9%, відповідно, від рівня у інтактних тварин.

Таблиця 5.2

Показники перекисного окислення ліпідів в інтраназальному змиві та сироватці крові щурів з експериментальним хімічним ринітом за умов лікування гелем «Імбирол» та маззю «Піносол», 14-а доба ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$)

Показники	Групи			
	I – інтактні щури	II – хімічний риніт	III – хімічний риніт + «Імбирол»	IV – хімічний риніт + «Піносол»
ДК, мкмоль/л (інтраназальні змиви)	0,497±0,054#	0,747±0,038*	0,559±0,044#	0,628±0,040#
ТБК, мкмоль/л (інтраназальні змиви)	0,263±0,010#	0,660±0,12*	0,292±0,054#	0,361±0,032#
ДК, мкмоль/л (сироватка крові)	0,416±0,044	0,700±0,046*	0,528±0,010	0,636±0,043*
ТБК, мкмоль/л (сироватка крові)	0,491±0,056#	1,061±0,081*	0,555±0,032#	0,653±0,059#

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі інтактних тварин;
2. # – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі тварин з ринітом без лікування;
3. n – кількість тварин у групі, 10.

Як видно з отриманих результатів, застосування лікувальних засобів з антиоксидантними властивостями дозволило достовірно знизити показники ПОЛ майже до параметрів норми. При порівнянні активності двох препаратів виявлено,

що фармакологічна активність гелю «Імбирол» була вищою за мазь «Піносол». Так, на 14-у добу у порівнянні з ринітом без лікування у інтраназальних змивах рівень ДК та ТБК-продуктів знизився під впливом гелю «Імбирол» на 25,2% та 55,7%, тоді як під впливом мазі «Піносол» – на 15,9% та 45,3% відповідно. У сироватці крові застосування гелю «Імбирол» дозволило знизити у порівнянні з ринітом без лікування рівень ДК та ТБК-продуктів на 24,6% та 47,7%, тоді як при застосуванні мазі «Піносол» ті ж показники знижувалися на 9,1% та 38,7%. Такі результати вказують на перевагу гелю «Імбирол» на мазю «Піносол» за здатністю нормалізувати показники ПОЛ у експериментальних тварин з хімічним ринітом.

Результати визначення показників АОЗ в умовах експериментального хімічного риніту у інтраназальних змивах та сироватці крові у разі місцевого застосування природних антиоксидантів подані у таблицях 5.3 та 5.4.

Застосування з лікувальною метою місцевих природних антиоксидантів гелю «Імбирол» та «Піносол» дозволило встановити, що на 14-у добу експерименту показники порушеного антиоксидантного захисного стану тканин слизової оболонки носових шляхів значно поліпшилися. Так, параметри Кат та ВГ достовірно підвищилися у обох групах, яким проводили лікування, у порівнянні з тваринами без лікування, $p < 0,05$, і наближалися до норми. Так, на 14-у добу активність Кат у інтраназальних змивах недостовірно відрізнялася від норми - на 5,7% - при застосуванні гелю «Імбирол» та на 13,6% - мазі «Піносол». Активність Кат у сироватці крові при застосуванні гелю «Імбирол» підвищилася до нормальних показників і перевищувала їх на 2,5%, при застосуванні мазі «Піносол» була недостовірно нижчою – на 15,3% – від показників інтактної групи.

Така позитивна динаміка спостерігалася і відносно показників ВГ. Лікувальні властивості гелю «Імбирол» дозволили підвищити рівень ВГ на 14-у добу не тільки до нормальних показників, а і перевищити їх на 22,4% у інтраназальних змивах і на 8,2% у сироватці крові. Лікувальні властивості гелю «Піносол» підвищили рівень ВГ у інтраназальних змивах на 14-у добу так, що він

на 12,7% став вищим за такий у інтактних щурів, у сироватці крові рівень ВГ був нижчим за інтактний контроль недостовірно – на 13,7%.

Таблиця 5.3

Показники антиоксидантної системи в інтраназальному змиві та сироватці крові щурів з експериментальним хімічним ринітом за умов лікування гелем «Імбирол» та маззю «Піносол», 3-я доба ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$)

Показники	Групи			
	I – інтактні щури	II – хімічний риніт	III – хімічний риніт + «Імбирол»	IV – хімічний риніт + «Піносол»
Каталаза, мкат/л (інтраназальні змиви)	118,36±3,78#	79,07±2,98*	78,56±3,03*	79,68±3,21*
ВГ, мкмоль/л (інтраназальні змиви)	3,19±0,23#	2,21±0,12*	2,23±0,10*	2,22±0,16*
Каталаза, мкат/л (сироватка крові)	21,71±1,25#	10,03±1,14*	11,24±1,12*	10,88±1,09*
ВГ, мкмоль/л (сироватка крові)	4,56±0,19#	2,81±0,127*	2,78±0,15*	2,80±0,10*

Примітки:

- * – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі інтактних тварин;
- # – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі тварин з ринітом без лікування;
- n – кількість тварин у групі, 10.

Таблиця 5.4

Показники антиоксидантної системи в інтраназальному змиві та сироватці крові щурів з експериментальним хімічним ринітом за умов лікування гелем «Імбирол» та маззю «Піносол», 14-а доба ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)

Показники	Групи			
	I – інтактні щери	II – хімічний риніт	III – хімічний риніт + «Імбирол»	IV – хімічний риніт + «Піносол»
Каталаза, мкат/л (інтраназальні змиви)	121,85±3,9 [#]	93,09±4,81*	114,93±5,97 [#]	105,25±5,13 [#]
ВГ, мкмоль/л (інтраназальні змиви)	3,32±0,208 [#]	2,45±0,104*	4,066±0,166*/ [#]	3,74±0,122 [#]
Каталаза, мкат/л (сироватка крові)	22,67±1,72 [#]	14,78±1,33*	23,23±1,86 [#]	19,21±2,01 [#]
ВГ, мкмоль/л (сироватка крові)	4,654±0,239 [#]	3,048±0,108*	5,032±0,409 [#]	4,014±0,282 [#]

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі інтактних тварин;
2. # – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі тварин з ринітом без лікування;
3. n – кількість тварин у групі, 10.

Таким чином, на фоні нормалізації показників прооксидантної активності, можемо відзначити, що подібна позитивна динаміка відбулася за рахунок підвищення активності факторів антиоксидантного захисту.

5.3. Стан системи перекисного окислення ліпідів та антиоксидантного захисту при експериментальному бактеріальному риніті за умов застосування гелю «Імбирол» та мазі «Піносол»

Відтворення наступної моделі експериментального риніту дозволить встановити чи спростувати вплив природних антиоксидантів місцевого застосування на перебіг запального бактеріального процесу слизової оболонки носових ходів експериментальних тварин. На даному етапі експериментального дослідження проведені визначення показників ПОЛ на моделі бактеріального риніту який відтворювали шляхом інтраназального одноразового введення музейного штаму *Staphylococcus aureus* (у кожний носовий прохід), і, починаючи з 3-ої доби після введення бактеріальної культури по 14-у добу включно, експериментальних тварин лікували досліджуванним гелем «Імбирол» та мазью «Піносол» [5]. Отримані результати порівнювали з такими в групі інтактного контролю та у тварин, яких не лікували після викликання патології.

Результати визначення показників ПОЛ у інтраназальних змивах та сироватці крові на моделі бактеріального риніту подані у таблицях 5.5 та 5.6.

Застосування лікувальних засобів за умов бактеріального пошкодження слизової оболонки дозволило значно покращити показники ПОЛ як у інтраназальних змивах, так і у сироватці крові. Так, на 14-у добу експерименту із застосування гелю «Імбирол» у інтраназальних змивах спостерігали зниження показників ДК до рівня інтактних тварин – вони становили 100,6% від таких у інтактних щурів, показники ТБК-продуктів майже досягли значень інтактної групи – становили 92,05% від таких у інтактних щурів. У сироватці крові за умов застосування гелю «Імбирол» рівень ДК становив 115,8% від норми та ТБК-продуктів – 112,9%. Такі результати достовірно свідчать про вплив гелю на активність компенсаторно-адаптаційних механізмів.

Застосування гелю «Піносол» мало подібний ефект. Так, у інтраназальних змивах рівні ДК та ТБК-продуктів достовірно не відрізнялися до норми, становлячи 97,5% та 113,6%, відповідно, від таких у інтактних щурів; у сироватці

крові рівень ДК та ТБК-продуктів знизився до 121,4% та 133,0%, відповідно, від таких у інтактних тварин.

Таблиця 5.5

Показники перекисного окислення ліпідів в інтраназальному змиві та сироватці крові щурів з експериментальним бактеріальним ринітом за умов лікування гелем «Імбирол» та маззю «Піносол», 3-я доба ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)

Показники	Групи			
	I – інтактні щери	II – бактеріальни й риніт	III – бактеріальни й риніт + «Імбирол»	IV – бактеріальни й риніт + «Піносол»
ДК, мкмоль/л (інтраназальні змиви)	0,440±0,054#	0,717±0,031*	0,714±0,030*	0,718±0,030*
ТБК, мкмоль/л (інтраназальні змиви)	0,298±0,012#	0,797±0,040*	0,793±0,038 ^{*/#}	0,797±0,026 ^{*/#}
ДК, мкмоль/л (сироватка крові)	0,441±0,031#	0,739±0,029*	0,738±0,033*	0,739±0,027*
ТБК, мкмоль/л (сироватка крові)	0,663±0,075#	1,633±0,041*	1,639±0,032*	1,647±0,027*

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі інтактних тварин;
2. # – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі тварин з ринітом без лікування;
3. n – кількість тварин у групі, 10.

Як видно з отриманих результатів, застосування лікувальних засобів з антиоксидантними властивостями дозволило достовірно знизити показники ПОЛ – практично до параметрів норми.

Таблиця 5.6

Показники перекисного окислення ліпідів в інтраназальному змиві та сироватці крові щурів з експериментальним бактеріальним ринітом за умов лікування гелем «Імбирол» та маззю «Піносол», 14-а доба ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$)

Показники	Групи			
	I – інтактні щури	II – бактеріальни й риніт	III – бактеріальни й риніт + «Імбирол»	IV – бактеріальни й риніт + «Піносол»
ДК, мкмоль/л (інтраназальні змиви)	0,444±0,048 [#]	0,624±0,022 [*]	0,447±0,055 [#]	0,433±0,052 [#]
ТБК, мкмоль/л (інтраназальні змиви)	0,302±0,010 [#]	0,746±0,135 [*]	0,278±0,051 [#]	0,343±0,031 [#]
ДК, мкмоль/л (сироватка крові)	0,443±0,042 [#]	0,707±0,032 [*]	0,513±0,047 [#]	0,538±0,041 [#]
ТБК, мкмоль/л (сироватка крові)	0,663±0,075 [#]	1,433±0,109 [*]	0,749±0,043 [#]	0,882±0,079 [#]

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі інтактних тварин;
2. # – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі тварин з ринітом без лікування;
3. n – кількість тварин у групі, 10.

При порівнянні активності двох препаратів можна відзначити, що фармакологічна активність гелю «Імбирол» за здатністю нормалізувати показники ПОЛ у експериментальних тварин з бактеріальним ринітом практично відповідала активності мазі «Піносол».

Результати визначення показників АОЗ в умовах експериментального бактеріального риніту у інтраназальних змивах та сироватці крові подані у таблицях 5.7 та 5.8.

Таблиця 5.7

Показники антиоксидантної системи в інтраназальному змиві та сироватці крові щурів з експериментальним бактеріальним ринітом за умов лікування гелем «Імбирол» та маззю «Піносол», 3-я доба ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)

Показники	Групи			
	I – інтактні щури	II – бактеріальн ий риніт	III – бактеріальний риніт + «Імбирол»	IV – бактеріальний риніт + «Піносол»
Каталаза, мкат/л (інтраназальні змиви)	97,21±3,78 #	81,07±1,28 *	80,56±1,32 *	80,68±1,21 *
ВГ, мкмоль/л (інтраназальні змиви)	3,21±0,21 #	2,18±0,11 *	2,17±0,10 *	2,18±0,15 *
Каталаза, мкат/л (сироватка крові)	23,71±1,25 #	11,13±1,04 *	10,23±1,14 *	10,98±1,15 *
ВГ, мкмоль/л (сироватка крові)	5,06±0,19 #	3,01±0,133 *	2,98±0,11 *	2,88±0,17 *

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі інтактних тварин;
2. # – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі тварин з ринітом без лікування;
3. n – кількість тварин у групі, 10.

Застосування з лікувальною метою гелю «Імбирол» та мазі «Піносол», що володіють антиоксидантними властивостями, показало, що до 14-ї доби експерименту активність порушеного антиоксидантного захисту тканин слизової оболонки носових шляхів значно поліпшилася.

Таблиця 5.8

Показники антиоксидантної системи в інтраназальному змиві та сироватці крові щурів з експериментальним бактеріальним ринітом за умов лікування гелем «Імбирол» та маззю «Піносол», 14-а доба ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)

Показники	Групи			
	I – інтактні щури	II – бактеріальни й риніт	III – бактеріальний риніт + «Імбирол»	IV – бактеріальни й риніт + «Піносол»
Каталаза, мкат/л (інтраназальні змиви)	96,21±6,75 [#]	121,85±1,43 [*]	105,25±5,13 [#]	96,81±8,92 [#]
ВГ, мкмоль/л (інтраназальні змиви)	3,05±0,10 [#]	2,25±0,109 [*]	3,92±0,13 ^{**#}	3,91±0,26 [#]
Каталаза, мкат/л (сироватка крові)	24,022±1,25 [#]	13,02±0,89 [*]	25,39±2,14 [#]	22,38±1,87 [#]
ВГ, мкмоль/л (сироватка крові)	5,09±0,30 [#]	3,36±0,135 [*]	5,95±0,44 [#]	4,56±0,35 [#]

Примітки:

- 1.* – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі інтактних тварин;
- 2.# – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі тварин з ринітом без лікування;
3. n – кількість тварин у групі, 10.

Активність Кат у інтраназальних змивах на 14-у добу при застосуванні гелю «Імбирол» стала достовірно нижчою за показник групи бактеріального риніту на 13,62% та на 20,55% при використанні мазі «Піносол». У сироватці крові на 14-у добу недостатність активності Кат у групі з бактеріальним ринітом без лікування становила 45,79%, що демонструє глибокий декомпенсований стан,

тоді як статистично значущої різниці в інших групах з лікуванням на 14-у добу виявлено не було. Це підтверджує неможливість самостійного відновлення Кат у групі з бактеріальним ринітом та демонструє лікувальні властивості терапевтичних засобів.

На 14-у добу активність Кат у інтраназальних змивах у порівнянні з інтактною групою недостовірно відрізнялася від норми – на 9,39% при застосування гелю «Імбирол» та на 1,6% при використанні мазі «Піносол». Активність Кат у сироватці крові при застосуванні гелю «Імбирол» підвищилася до нормальних показників і навіть перевищувала їх на 5,7%, а при застосуванні гелю «Піносол» була недостовірно менша – на 6,8% – від показників інтактної групи.

Така позитивна динаміка спостерігалася і щодо показників ВГ. Недостатність ВГ становила 26,23% у інтраназальних змивах та 34% у сироватці крові у порівнянні групи з бактеріальним ринітом без лікування з інтактним контролем. Підвищення рівня ВГ становило 30,2% у інтраназальних змивах та 16,9% у сироватці крові під впливом гелю «Імбирол» у порівнянні з інтактною групою. Лікувальні властивості гелю «Піносол» дозволили підвищити рівень ВГ у інтраназальних змивах на 30,1% від інтактного контролю, проте у сироватці крові спостерігали недостатність активності ВГ на 10,4% у порівнянні з інтактними тваринами.

Таким чином, на фоні нормалізації показників прооксидантної активності, можемо відзначити, що подібна позитивна динаміка відбулася за рахунок підвищення активності факторів антиоксидантного захисту.

5.4. Визначення коефіцієнту оксидативного стресу при експериментальних ринітах різного генезу при місцевому застосуванні з лікувальною метою гелю «Імбирол» та мазі «Піносол»

Визначення ступеня порушення ПОЛ та АОЗ, при місцевому застосуванні з лікувальною метою гелю «Імбирол» та мазі «Піносол», на місцевому та

системному рівнях та, головне, на моделях різних видів ринітів стало нашим наступним завданням.

Визначення коефіцієнту оксидативного стресу проводили за вищеописаною формулою 2.3. (див. главу 3). Розрахунок проводили для 14-ї доби експерименту, для показників місцевого і системного рівнів.

Результати дослідження динаміки коефіцієнту оксидативного стресу при експериментальному хімічному риніті представлені на рис. 5.1 та 5.2, табл. 5.9, 5.10.

Зважаючи на той факт, що в нормі коефіцієнт оксидативного стресу наближається до 1,0, тобто демонструє рівновагу показників перекисного окиснення та антиоксидантного захисту, дослідження взаємозв'язку цих процесів дозволить оцінити ступінь впливу антиоксидантних засобів на перебіг експериментального риніту.

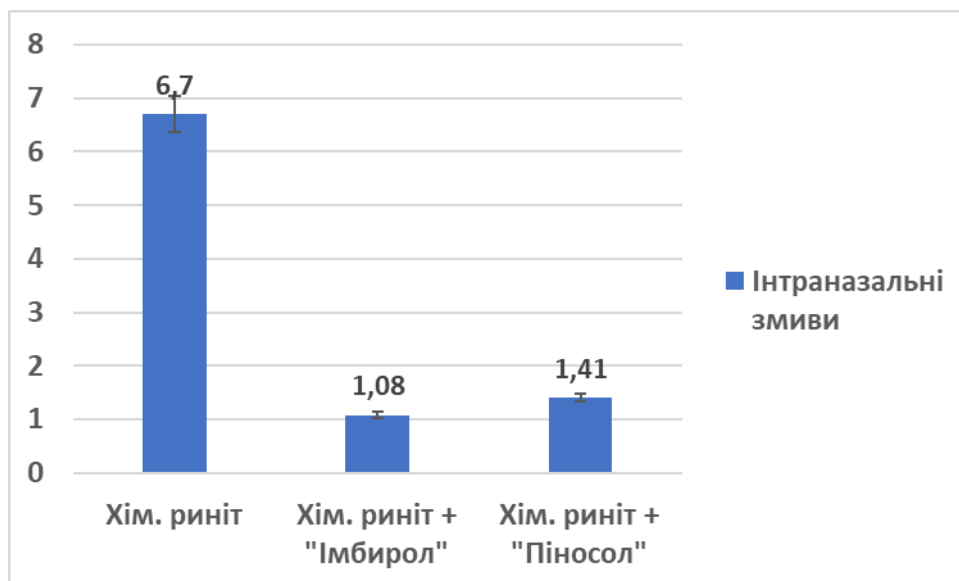


Рис. 5.1. Коефіцієнти оксидативного стресу в інтраназальних змивах піддослідних тварин на моделі хімічного риніту на 14-у добу експерименту при застосуванні місцевих антиоксидантів.

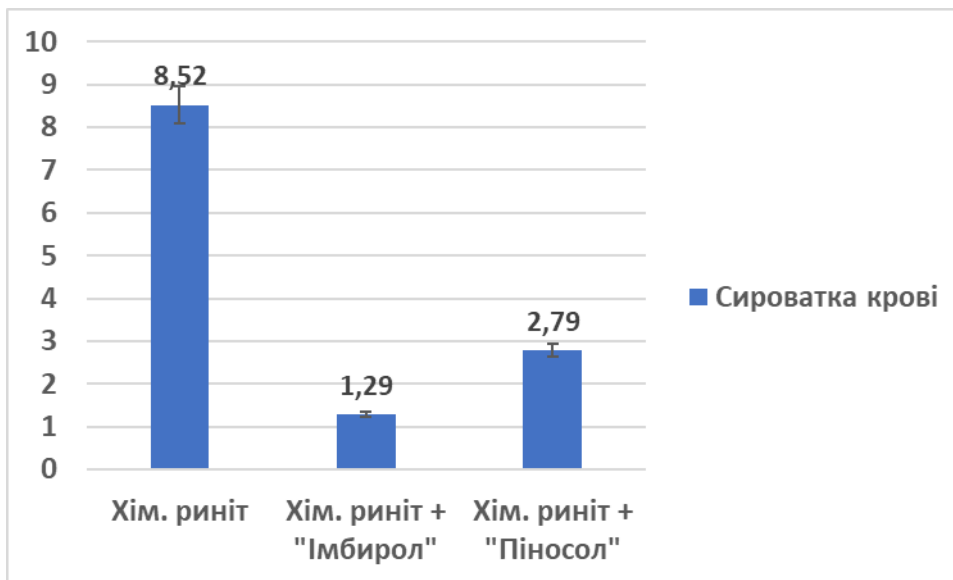


Рис. 5.2. Коефіцієнти оксидативного стресу в сироватці крові піддослідних тварин на моделі хімічного риніту на 14-у добу експерименту при застосуванні місцевих антиоксидантів.

Таблиця 5.9

Коефіцієнти оксидативного стресу на моделі експериментального хімічного риніту в інтраназальних змивах піддослідних тварин при застосуванні місцевих антиоксидантів, 14-а доба ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)

Показники	Групи		
	II – хімічний риніт	III – хімічний риніт + «Імбирол»	IV – хімічний риніт + «Піносол»
інтраназальні змиви	6,7±0,55	1,08±0,10*	1,41±0,24*

Примітки:

- 1.* – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі тварин з ринітом без лікування;
2. n – кількість тварин у групі, 10.

Таблиця 5.10

Коефіцієнти оксидативного стресу на моделі експериментального хімічного риніту в сироватці крові піддослідних тварин при застосуванні місцевих антиоксидантів, 14-а доба ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$)

Показники	Групи		
	II – хімічний риніт	III – хімічний риніт + «Імбирол»	IV – хімічний риніт + «Піносол»
сироватка крові	8,52±0,77	1,29±0,19*	2,79±0,18*

Примітки:

- 1.* – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі тварин з ринітом без лікування;
2. n – кількість тварин у групі, 10.

Застосування лікувальних засобів з антиоксидантними властивостями, як це видно з наданих результатів, значно поліпшувало перебіг експериментальних ринітів. Коефіцієнти оксидативного стресу при застосуванні гелю «Імбирол» та мазі «Піносол» наближалися до 1,0. Так, коефіцієнт оксидативного стресу у інтраназальних змивах на 14-у добу при застосуванні гелю «Імбирол» становить 1,08, а при застосуванні мазі «Піносол» – 1,41. Такі дані відбивають здатність досліджених засобів позитивно впливати на стан показників ПОЛ та АОЗ.

Застосування місцевих антиоксидантів знижувало коефіцієнт оксидативного стресу в сироватці крові до 1,29 при застосуванні гелю «Імбирол» та до 2,79 при застосуванні мазі «Піносол» проти коефіцієнту 8,52 у тварин з хімічним ринітом без лікування на 14-у добу спостереження.

Такі дані свідчать про здатність досліджених засобів позитивно впливати на перебіг хімічного риніту за рахунок посилення механізмів компенсації тканини слизової оболонки носа, а саме пригнічувати процеси вільнорадикального окиснення та підвищувати активність АОЗ. При цьому здатність нормалізувати показники ПОЛ та АОЗ з боку гелю «Імбирол» була незначно більш вираженою у порівнянні з гелем «Піносол».

Результати визначення динаміки коефіцієнту оксидативного стресу при експериментальному бактеріальному риніті наведені на рис. 5.3 та 5.4, табл. 5.11 та 5.12.

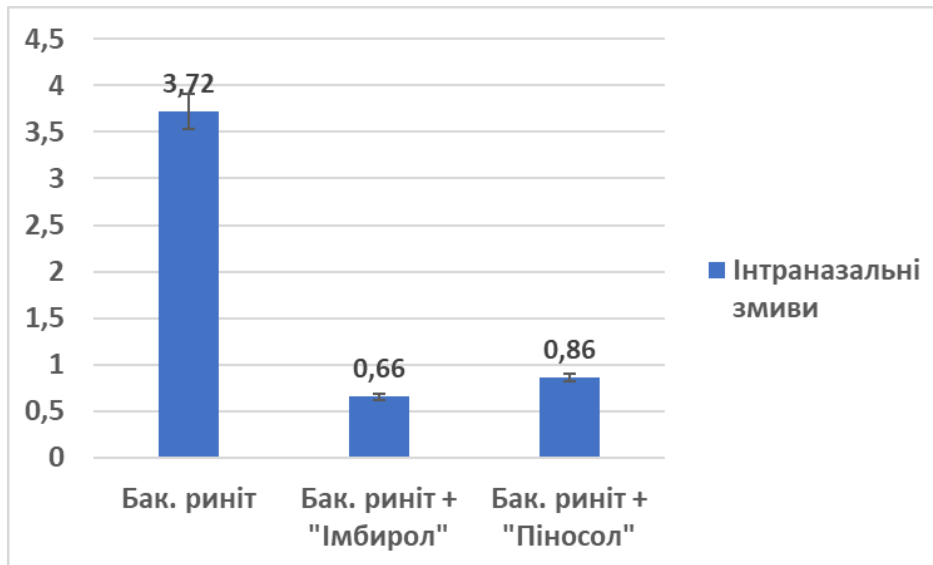


Рис. 5.3. Коефіцієнти оксидативного стресу в інтраназальних змивах піддослідних тварин на моделі бактеріального риніту на 14-у добу експерименту при застосуванні місцевих антиоксидантів.

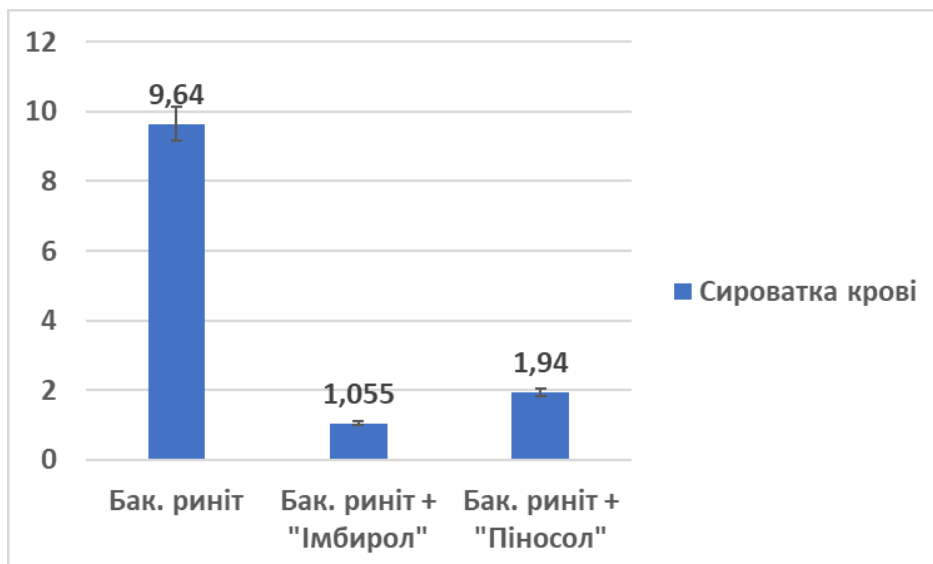


Рис. 4. Коефіцієнти оксидативного стресу в сироватці крові піддослідних тварин на моделі бактеріального риніту на 14-у добу експерименту при застосуванні місцевих антиоксидантів.

Місцеве застосування природних антиоксидантів гелю «Імбирол» та мазі «Піносол», як видно на рисунку, приводило до практично повного відновлення

балансу прооксидантно-антиоксидантної системи та наближення коефіцієнту оксидативного стресу до 1,0.

Таблиця 5.11

Коефіцієнти оксидативного стресу на моделі експериментального бактеріального риніту в інтраназальних змивах піддослідних тварин при застосуванні місцевих антиоксидантів, 14-а доба ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)

Показники	Групи		
	II – бактеріальний риніт	III – бактеріальний риніт + «Імбирол»	IV – бактеріальний риніт + «Піносол»
інтраназальні змиви	3,72±0,76	0,66±0,10*	0,86±0,12*

Примітки:

- 1.* – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі тварин з ринітом без лікування;
2. n – кількість тварин у групі, 10.

Таблиця 5.12

Коефіцієнти оксидативного стресу на моделі експериментального бактеріального риніту в сироватці крові піддослідних тварин при застосуванні місцевих антиоксидантів, 14-а доба ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)

Показники	Групи		
	II – бактеріальний риніт	III – бактеріальний риніт + «Імбирол»	IV – бактеріальний риніт + «Піносол»
сироватка крові	9,64±1,15	1,055±0,10*	1,94±0,21*

Примітки:

- 1.* – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі тварин з ринітом без лікування;
2. n – кількість тварин у групі, 10.

Застосування з лікувальною метою місцевих антиоксидантів гелю «Імбирол» та мазі «Піносол» дозволило суттєво знизити показники порушеного прооксидантно-антиоксидантного стану – до показників інтактної групи. Як видно з рисунку, застосування гелю «Імбирол» призвело до зниження коефіцієнту оксидативного стресу до 1,055 та мазі «Піносол» – до 1,94, замість 9,64 при риніті без лікування на 14-у добу. Такі результати доводять потужний вплив природних антиоксидантів при місцевому застосуванні на відновлення декомпенсованого прооксидантно-антиоксидантного балансу слизової оболонки носа в умовах експериментального бактеріального риніту.

Таким чином, достовірно встановлено, за показником коефіцієнту оксидативного стресу, потужний позитивний вплив засобів з антиоксидантними властивостями на процеси компенсації та відновлення прооксидантно-антиоксидантного балансу в умовах різних видів ринітів. Доведено, що лікувальні властивості гелю «Імбирол» та мазі «Піносол» з антиоксидантною активністю обумовлюють їх ефективність при різних видах ринітів (хімічному та бактеріальному) на місцевому та системному рівнях розвитку патології. За параметрами здатності лікувального засобу знижувати коефіцієнт оксидативного стресу та сприяти відновленню балансу проокисних і антиокислювальних систем гелю «Імбирол» не поступався мазі «Піносол».

Висновки до розділу 5

1. Виявлено, що при хімічному риніті в інтраназальних змивах на 14-у добу коефіцієнт оксидативного стресу знизився при застосуванні гелю «Імбирол» до 1,08 ($p < 0,05$) та при застосуванні мазі «Піносол» – до 1,41 ($p < 0,05$) проти 6,7 ($p < 0,05$) при риніті без лікування; у сироватці крові – при застосуванні гелю «Імбирол» – до 1,29 ($p < 0,05$) та при застосуванні мазі «Піносол» – до 2,79 ($p < 0,05$) проти 8,52 ($p < 0,05$) у тварин із ринітом без лікування на 14-у добу спостереження

2. При бактеріальному риніті коефіцієнт оксидативного стресу в інтраназальних змивах на 14-у добу знизився при застосуванні гелю «Імбирол» до 0,66 ($p < 0,05$) та при застосуванні «Піносол» – до 0,864 ($p < 0,05$) проти 3,72

($p < 0,05$) при риніті без лікування на 14-у добу; у сироватці крові при застосуванні гелю «Імбирол» – до 1,055 ($p < 0,05$) та при застосуванні гелю «Піносол» – до 1,94 ($p < 0,05$) проти коефіцієнта 9,64 ($p < 0,05$) у тварин із ринітом без лікування на 14-у добу спостереження.

3. Отримані результати доводять позитивний вплив природних антиоксидантів при місцевому застосуванні на відновлення декомпенсованого прооксидантно-антиоксидантного балансу слизової оболонки носа та сироватки крові в умовах експериментального риніту різного генезу.

Список праць:

1. Крижна С.І., Київська Ю.О., Тюпка Т.І., Козар В.В. Дослідження пливу гелю «Імбирол» на показники ПОЛ та АОС слизової носу щурів при моделюванні травматичного риніту. Вісник проблем біології і медицини. – 2017. – Вип.4, Т.3(141). – С. 150-153.
2. Інформаційний лист № 141-2018 МОЗ України, Укрмедпатентінформ «Комплекс ефірних олій як потенційний коректор неспецифічного імунітету при ринітах різного генезу» Крижна С.І., Київська Ю.О.
3. Kryzhna S.I., Kievskaya Yu.A., Tyupka T.I., Kozar V.V. APPLICATION OF NATURAL ANTIOXIDANTS IN THE COMPOSITION OF GEL "IMBIROL" FOR RHINITIS OF DIFFERENT GENESIS. Journal of education, health and sport. Vol.2, №3, 2018. P. 47-50.
4. Крижна С.І., Київська Ю.О., Тюпка Т.І., Козар В.В. Дослідження стану оксидативного стресу при експериментальних ринітах різного генезу. Вісник проблем біології і медицини. – 2019. – Вип.1, Т.1(148). – С. 133-137.

РОЗДІЛ VI

ВПЛИВ ПРИРОДНИХ АНТИОКСИДАНТІВ НА ПОКАЗНИКИ ІМУННОГО СТАТУСУ ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМИ РИНИТАМИ РІЗНОГО ГЕНЕЗУ

6.1. Стан клітинного та гуморального імунітету при експериментальному хімічному риніті за умов застосування місцевих антиоксидантів (гелю «Імбирол» та мазі «Піносол»)

Проведення низки досліджень щодо стану ПОЛ та АОС дозволило встановити достовірний розвиток певних зсувів та їх ступінь на експериментальній моделі хімічного риніту. При цьому наступні дослідження дозволили встановити, що запальний та оксидативний процеси, що є важливими патогенетичними компонентами риніту, відбувалися на тлі порушення з боку імунної системи, а саме: на тлі значної активації нейтрофілів і пригнічення інших параметрів клітинної, а також гуморальної ланок неспецифічної імунної відповіді, що в подальшому і забезпечує підтримання оксидативного стресу та незавершеність запалення в слизовій оболонці по закінченню експерименту. Було визначено недостатність власних механізмів компенсації організму піддослідних тварин – з боку системи ПОЛ/АОС та імунної відповіді.

Отримані результати вказують на необхідність подальших досліджень з метою корекції – для профілактики виявлених порушень та компенсації вже існуючих – за допомогою природних антиоксидантів. Такі сполуки мають здатність природно нормалізувати метаболізм пошкодженої тканини, майже не викликають системних ускладнень, за виключенням поодиноких випадків алергійних проявів, є нетоксичними, та мають цілий спектр необхідних фармакологічних ефектів. Так, у якості безперечно препарату природного походження з антиоксидантними властивостями обрано гель «Піносол», який має лікувальні протизапальні та антиоксидантні властивості [23]. Вибір наступного природного антиоксиданта – гелю «Імбирол» – обумовлений низкою факторів, а

саме створенням вітчизняної лікарської м'якої форми з лікувальними протизапальними, антиоксидантними та антимікробними властивостями та пролонгованою ефективністю, що доведено попередніми комплексними фармакологічними дослідженнями.

Завданням цього етапу досліджень стало вивчення стану імунітету слизової оболонки носу, показники якої в першу чергу відбивають ступінь захисту від різних назальних антигенних впливів та здатність організму компенсувати порушення за рахунок антиоксидантів. Це дозволить не тільки більш повно уявити патогенез захворювань, але і розробити раціональні методи терапії і профілактики.

На цьому етапі нашого дослідження з імунологічних показників визначали:

1. В назальному змиві – лізоцим, фагоцитарну активність нейтрофілів, метаболічну активність нейтрофілів (НСТ-тест), активність натуральних (вроджених) кілерних клітин (НКК).

2. В крові: титр гетерофільних аглютининів та гемолізинів.

На моделі експериментального хімічного риніту, що викликався нанесенням їдкого натрію у кожную ніздрю експериментальних тварин, ми дослідили стан імунологічної резистентності на 3-ю добу та наприкінці терміну спостереження (14-й день) у тварин при корекції такого стану місцевим нанесенням засобів, що містять природні антиоксиданти: гелю «Імбирол» та мазі «Піносол». Отримані результати порівнювали з такими в групі інтактного контролю та у тварини, яких не лікували після відтворення риніту.

Результати дослідження рівня лізоциму в інтраназальних змивах в умовах хімічного риніту наведені у таблиці 6.1.

На 3-ю добу відтворення експериментального бактеріального риніту недостатність лізоциму становила 37,8% у всіх дослідних групах у порівнянні з інтактною групою. Після застосування препаратів «Імбирол» та «Піносол» на 14-у добу спостерігали вірогідне зростання рівня лізоциму на 27,7% та 26% відповідно у порівнянні з групою з бактеріальним ринітом без лікування.

Таблиця 6.1

Рівень лізоциму (мкг/мг білка) в інтраназальному змиві щурів із експериментальним хімічним ринітом за умов лікування гелем «Імбирол» та маззю «Піносол» ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$)

Термін дослідження, доба	I – інтактні щури	II – хімічний риніт	III – хімічний риніт + «Імбирол»	IV – хімічний риніт + «Піносол»
3-я	46,41±3,12 [#]	31,2±3,92 [*]	30,22±4,78 ^{*/#}	31,57±5,41 ^{*/#}
14-а	48,13±3,16 [#]	37,2±4,33 [*]	47,5±6,62 [#]	46,9±6,71 [#]

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі інтактних тварин;
2. # – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі тварин з ринітом без лікування;
3. n – кількість тварин у групі, 10.

Після застосування лікарської форми препаратів «Імбирол» та «Піносол» з антиоксидантними властивостями спостерігали до кінцевого терміну дослідження вірогідне зростання рівня лізоциму практично до значень інтактного контролю ($p < 0,05$), що вказує на зменшення проявів запалення та відновлення функції слизової оболонки, зокрема, стосовно секреції лізоциму.

З факторів неспецифічного імунного захисту, які визначають механізми елімінації патогенних чинників, ми дослідили фагоцитарну та метаболічну активність гранулоцитів. Ступінь активації цих клітин відбиває перебіг запального процесу в подальшому. Адгезія, хемокінез і хемотаксис фагоцитів, вивільнення вмісту гранул, дихальний вибух та метаболічна активність, що супроводжує ці ефекти, забезпечують як елімінацію патогенів, так і пошкодження навколишніх тканин за рахунок дегрануляції і виходу в навколишнє середовище великої кількості ферментів, метаболітів кисню та інших біологічно активних речовин.

Результати визначення показників фагоцитарної та метаболічної активності нейтрофілів у інтраназальному змиві щурів із експериментальним хімічним ринітом за умов застосування антиоксидантів подані у таблиці 6.2.

Застосування гелю «Імбирол» та мазі «Піносол» достовірно сприяло зменшенню проявів запалення і нормалізації функціональної метаболічної активності фагоцитів за показниками ФІ, ФЧ та НСТ-тесту, які відновилися до показників інтактної групи ($p > 0,05$), що свідчить про високу фармакологічну активність даних засобів.

Таблиця 6.2

Показники фагоцитарної та метаболічної активності нейтрофілів в інтраназальному змиві щурів із експериментальним хімічним ринітом за умов лікування гелем «Імбирол» і маззю «Піносол» ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)

Показник	I – інтактні шури	II – хімічний риніт	III – хімічний риніт + «Імбирол»	IV – хімічний риніт + «Піносол»
3-я доба експерименту				
ФІ, %	41,19±1,42 [#]	37,43±1,44 [*]	38,12±1,14 [#]	37,77±1,34 [#]
ФЧ, од.	2,19±0,07 [#]	1,87±0,06 [*]	1,90±0,07 [#]	1,89±0,04 [#]
НСТ, %	11,05±0,38 [#]	18,22±0,39 [*]	17,88±0,41 [#]	18,14±0,43 [#]
14-а доба експерименту				
ФІ, %	42,2±1,14 [#]	35,3±1,60 [*]	44,6±1,17 [#]	43,8±1,21 [#]
ФЧ, од.	2,20±0,05 [#]	1,90±0,07 [*]	2,48±0,06 [#]	2,37±0,03 [#]
НСТ, %	11,2±0,4 [#]	16,3±0,4 [*]	11,5±0,3 [#]	11,9±0,4 [#]

Примітки:

- * – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі інтактних тварин;
- # – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі тварин з ринітом без лікування;
- n – кількість тварин у групі, 10.

Застосування лікувальних засобів – гелю «Імбирол» та мазі «Піносол» – дозволило значно покращити ці показники у інтраназальних змивах до рівня інтактних тварин ($p > 0,05$). Так, ФІ та ФЧ на 3 добу достовірно зменшилися у всіх експериментальних груп з патологією у порівнянні з інтактною групою, недостатність ФІ становила 9,1%, ФЧ – 14,6%. На 14-у добу ФІ недостатність становила 16,4%, ФЧ 13,6%. При цьому показники фагоцитарної активності у групі з хімічним ринітом не відновилися, а у групах з препаратами такі показники не тільки достовірно відновилися, але і перевищували показники у групі з хімічним ринітом без лікування. Так, ФІ на 14-у добу під впливом гелю «Імбирол» перевищував показники групи з ринітом без лікування на 26,3%, маззю «Піносол» – на 24,1%; показники ФЧ покращилися відповідно на 30,5% та 24,7%.

Метаболічна активність нейтрофілів у групі з ринітом без лікування підвищилася на 64,9% у порівнянні з інтактною групою на 3-ю добу у всіх експериментальних груп. На 14-у добу НСТ-тест залишався підвищеним на 45,5% та самостійно не відновився. Застосування терапевтичних засобів дозволило знизити показник НСТ до норми інтактних тварин, при цьому у порівнянні з групою з ринітом без лікування різниця становила 29,4% для гелю «Імбирол» і 27% для мазі «Піносол». Тобто у групі з ринітом без лікування НСТ залишався стабільно високим до кінця терміну спостереження та лікувальні засоби мали виражений позитивний вплив.

Результати визначення показників індексу цитотоксичності натуральних кілерів у інтраназальному змиві щурів із експериментальним хімічним ринітом за умов застосування антиоксидантів подані у таблиці 6.3.

Індекс цитотоксичності на 14-у добу досліду перевищував цей показник у групі з ринітом без лікування при застосуванні гелю «Імбирол» на 33% і мазі «Піносол» на 30,2% та досягав рівню інтактної групи.

До важливих показників стану функціонування імунної системи належать також представники гуморальної ланки неспецифічної резистентності організму – антитіла інакшої специфічності: гемолізину та гетерофільні аглютиніни. Хоча вони виявляються в низьких титрах у сироватці крові, проте становлять певну

частину імуноглобулінів, що синтезуються. Їх дія спрямована на аглютинацію бактерій, їх руйнування (в присутності комплементу), нейтралізацію вірусів і токсинів, стимуляцію фагоцитозу (через опсонізацію збудників).

Таблиця 6.3

Індекс цитотоксичності (%) натуральних кілерів у інтраназальному змиві щурів із експериментальним хімічним ринітом за умов лікування гелем «Імбирол» і маззю «Піносол» ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)

Термін дослідження, доба	I – інтактні щури	II – хімічний риніт	III – хімічний риніт + «Імбирол»	IV – хімічний риніт + «Піносол»
3-я	35,11±6,18 [#]	26,83±6,88*	28,11±6,23*	27,34±6,06*
14-а	36,2±7,81 [#]	29,1±7,91*	38,7±5,2 [#]	37,9±6,1 [#]

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі інтактних тварин;
2. # – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі тварин з ринітом без лікування;
3. n – кількість тварин у групі, 10.

У попередніх дослідженнях нами визначено динаміку змін рівня таких неспецифічних антитіл під впливом хімічного пошкодження. Застосування засобів з антиоксидантними властивостями допоможе оцінити їх вплив на динаміку перебігу запально-деструктивного процесу. Тому результати визначення цих показників у інтраназальному змиві щурів із експериментальним хімічним ринітом за умов застосування антиоксидантів подані у таблиці 6.4.

Рівень ГЛ достовірно знизився на 20,9% у всіх експериментальних групах та ГА на 11,7% на 3-ю добу експерименту. До 14-ої доби застосування лікувальних засобів – гелю «Імбирол» та мазі «Піносол» – дозволило значно покращити ці показники у сироватці крові. Так, на 14-у добу рівень ГЛ перевищував цей показник у порівнянні з групою з ринітом без лікування при застосуванні гелю

«Імбирол» на 30,9% та 33,5% у групі з «Піносол». Рівень ГА перевищував рівень групи з ринітом без лікування на 47,4% та 42,1% відповідно.

Таблиця 6.4

Рівень гемолізинів та гетерофільних аглютининів в сироватці крові щурів із експериментальним хімічним ринітом за умов лікування «Імбиролом» та «Піносол» ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$)

Показник, титр	I – інтактні щури	II – хімічний риніт	III – хімічний риніт + «Імбирол»	IV – хімічний риніт + «Піносол»
3-я доба експерименту				
ГЛ	4,31±0,45 [#]	3,41±0,55 ^{a)}	3,56±0,45*	3,49±0,46*
ГА	2,39±0,37	2,11±0,29 ^{a)}	2,18±0,32	2,17±0,33
14-а доба експерименту				
ГЛ	4,61±0,51 [#]	3,82±0,52 ^{a)}	5,0±0,3 [#]	5,1±0,5 [#]
ГА	2,51±0,34 [#]	1,90±0,31 ^{a)}	2,8±0,5 [#]	2,7±0,4 [#]

Примітки:

- * – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі інтактних тварин;
- # – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі тварин з ринітом без лікування;
- ^{a)} – тенденція ($0,1 > p > 0,05$) у порівнянні з показником в групі інтактних тварин;
- n – кількість тварин у групі, 10.

Рівень ГЛ та ГА при застосуванні гелю «Імбирол» перевищував рівень у інтактних тварин на 14-у добу на 8,5% та 11,5% відповідно, що не є достовірно. Застосування лікувального засобу «Піносол» також призводило до стимуляції гуморальної ланки неспецифічної резистентності. До 14-ї доби експерименту такі показники перевищували показники інтактної групи тварин: ГЛ на 10,6%, ГА на 7,6%.

Отримані дані вказують на те, що, не зважаючи на місцеву травму та місцеве запалення, в крові також спостерігаються зміни вроджених факторів гуморального імунітету у щурів із експериментальним хімічним ринітом у порівнянні з інтактними тваринами. При цьому застосування засобів з антиоксидантною активністю повністю компенсувало недостатність власної гуморальної ланки неспецифічної резистентності.

6.2. Стан клітинного та гуморального імунітету при експериментальному бактеріальному риніті за умов застосування місцевих антиоксидантів (гелю «Імбирол» та мазі «Піносол»)

На даному етапі експериментального дослідження нашим завданням стало визначення показників клітинного та гуморального імунітету на моделі бактеріального риніту за умов місцевого застосування лікувальних засобів з антиоксидантною активністю. Раніше нами доведено розвиток вираженого бактеріального запалення носових ходів з пригніченням показників як місцевого, так і загального імунітету та неспроможністю імунної системи самотужки компенсувати подібні зсуви. Встановлення здатності антиоксидантів корегувати перебіг бактеріального запалення та факту їх впливу на активність імунної системи надасть можливість визначити певні патогенетичні ланцюги, що потребують фармакотерапевтичних заходів. Експериментальну модель бактеріального риніту відтворювали шляхом інтраназального одноразового введення добової культури музейного штаму *Staphylococcus aureus* (у кожний носовий прохід). Починаючи з 3-го по 14-й день після введення бактеріальної культури включно тварин лікували гелем «Імбирол» та маззю «Піносол» [23]. Отримані дані порівнювали з такими в групі інтактного контролю та у тварини, яких не лікували після відтворення риніту.

Результати визначення рівня лізоциму у інтраназальних змивах на моделі бактеріального риніту подані у таблиці 6.5.

На 3-ю добу відтворення експериментального бактеріального риніту недостатність лізоциму становила 37,8% у всіх дослідних групах у порівнянні з

інтактною групою. Після застосування препаратів «Імбирол» та «Піносол» на 14-у добу спостерігали вірогідне зростання рівня лізоциму на 29,1% та 30,3% відповідно у порівнянні з групою з бактеріальним ринітом без лікування. При цьому рівень лізоциму у групах з лікуванням вже практично не відрізнявся від значень інтактного контролю ($p > 0,05$). Це вказує на зменшення проявів запалення та відновлення функції слизової оболонки, зокрема, стосовно секреції лізоциму.

Таблиця 6.5

Рівень лізоциму (мкг/мг білка) в інтраназальному змиві щурів із експериментальним бактеріальним ринітом за умов лікування гелем «Імбирол» та маззю «Піносол» ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$)

Термін дослідження, доба	I – інтактні щури	II – бактеріальний риніт	III – бактеріальний риніт «Імбирол»	IV – бактеріальний риніт «Піносол»
3-я	47,37±2,91 [#]	29,48±4,11 [*]	29,18±3,82 [*]	30,45±4,47 [*]
14-а	48,4±3,63	34,7±5,14 [*]	44,8±5,72 [#]	45,2±6,31 [#]

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі інтактних тварин;
2. # – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі тварин з ринітом без лікування;
3. n – кількість тварин у групі, 10.

Наступним фактором неспецифічного імунного захисту, що вивчався, став показник фагоцитарної активності гранулоцитів, що визначає активність системи гуморально-клітинної кооперації (табл. 6.6). Застосування лікувальних засобів – гелю «Імбирол» та мазі «Піносол» – дозволило значно покращити ці показники у інтраназальних змивах до рівня інтактних тварин ($p < 0,05$). Так, ФІ та ФЧ на 3 добу достовірно зменшилися у всіх експериментальних груп з патологією у порівнянні з інтактною групою, недостатність ФІ становила 27,9%, ФЧ – 13,2%.

Таблиця 6.6

Показники фагоцитарної та метаболічної активності нейтрофілів в інтраназальному змиві щурів із експериментальним бактеріальним ринітом за умов лікування гелем «Імбирол» та маззю «Піносол» ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)

Показник	I – інтактні щури	II – бактеріальний риніт	III – бактеріальний риніт + «Імбирол»	IV – бактеріальний риніт + «Піносол»
3-я доба експерименту				
ФІ, %	42,2±1,14 [#]	30,41±1,17*	31,55±0,98*	32,71±0,87*
ФЧ, од.	2,20±0,07 [#]	1,91±0,04*	1,87±0,05*	1,88±0,06*
НСТ, %	11,2±0,4	13,17±0,35	13,75±0,22	14,25±0,34
14-а доба експерименту				
ФІ, %	42,20±1,14 [#]	32,0±1,16*	43,73±1,21 [#]	43,01±1,41 [#]
ФЧ, од.	2,20±0,05 [#]	1,50±0,03*	2,68±0,06 [#]	2,59±0,03 [#]
НСТ, %	11,20±0,4 [#]	19,30±0,6*	11,62±0,6 [#]	11,80±0,6 [#]

Примітки:

- * – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі інтактних тварин;
- # – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі тварин з ринітом без лікування;
- n – кількість тварин у групі, 10.

На 14-у добу ФІ недостатність становила 24,2%, ФЧ 31,8% у порівнянні з інтактною групою. При цьому показники фагоцитарної активності у групі з бактеріальним ринітом не відновилися, а у групах з препаратами такі показники не тільки достовірно відновилися, але і перевищували показники у групі з ринітом без лікування. Так, ФІ на 14-у добу під впливом гелю «Імбирол» перевищував

показники групи з ринітом без лікування на 36,7%, маззю «Піносол» – на 34,4%; показники ФЧ покращилися відповідно на 78,7% та 72,7%.

Метаболічна активність нейтрофілів у групі з ринітом без лікування підвищилася на 17,6% у порівнянні з інтактною групою на 3-ю добу у всіх експериментальних груп. На 14-у добу НСТ-тест залишався підвищеним на 72,3% та самостійно не відновився. Застосування терапевтичних засобів дозволило знизити показник НСТ до норми інтактних тварин, при цьому у порівнянні з групою з ринітом без лікування різниця становила 39,8% для гелю «Імбирол» і 38,9% для мазі «Піносол». Тобто у групі з ринітом без лікування НСТ залишався стабільно високим до кінця терміну спостереження та лікувальні засоби мали виражений позитивний вплив.

Результати визначення показників індексу цитотоксичності натуральних кілерів у інтраназальному змиві щурів із експериментальним бактеріальним ринітом за умов застосування антиоксидантів подані у таблиці 6.7.

Таблиця 6.7

Індекс цитотоксичності (%) натуральних кілерів в інтраназальному змиві щурів із експериментальним бактеріальним ринітом за умов лікування гелем «Імбирол» та маззю «Піносол» ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)

Термін дослідження, доба	I – інтактні щури	II – бактеріальний риніт	III – бактеріальний риніт + «Імбирол»	IV – бактеріальний риніт + «Піносол»
3-я	36,21±7,82 [#]	28,23±6,48 [*]	29,33±6,42 [*]	30,02±5,26 [*]
14-а	36,21±7,81 [#]	24,6±7,82 [*]	39,1±8,15 [#]	39,0±7,21 [#]

Примітки:

- * – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі інтактних тварин;
- # – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі тварин з ринітом без лікування;
- n – кількість тварин у групі, 10.

Індекс цитотоксичності на 14-у добу досліджував цей показник у групі з ринітом без лікування при застосуванні гелю «Імбирол» на 58,9% і мазі «Піносол» на 58,5% та досягав рівню інтактної групи.

Проведені дослідження клітинних елементів слизової оболонки носу – натуральних кілерних клітин (NK) – дозволили встановити, що застосування місцевих антиоксидантів гелю «Імбирол» та мазі «Піносол» сприяло підвищенню активності NK-клітин, яка мало відрізнялася від інтактного контролю до кінця експерименту.

Також було проведено визначення рівня гемолізину та гетерофільних аглютининів у сироватці крові при бактеріальному риніті під впливом місцевого застосування антиоксидантів – гелю «Імбирол» та мазі «Піносол». Результати визначення цих показників у інтраназальному змиві щурів із експериментальним хімічним ринітом за умов застосування антиоксидантів подані у таблиці 6.8.

Рівень ГЛ достовірно знизився на 24,8% у всіх експериментальних групах та ГА на 21,3% на 3-ю добу експерименту. До 14-ої доби застосування лікувальних засобів – гелю «Імбирол» та мазі «Піносол» – дозволило значно покращити ці показники у сироватці крові. Так, на 14-у добу рівень ГЛ перевищував цей показник у порівнянні з групою з ринітом без лікування при застосуванні гелю «Імбирол» на 33% та 29,9% у групі з «Піносол» ($p < 0,05$). Рівень ГА перевищував рівень групи з ринітом без лікування на 106,2% та 111,1% відповідно ($p < 0,05$).

Рівень ГЛ та ГА при застосуванні гелю «Імбирол» перевищував рівень у інтактних тварин на 14-у добу на 8,5% та 11,5% відповідно, що не є достовірно. Застосування лікувального засобу «Піносол» також призводило до стимуляції гуморальної ланки неспецифічної резистентності. До 14-ї доби експерименту такі показники перевищували показники інтактної групи тварин: ГЛ на 10,6%, ГА на 7,6%.

Проведені дослідження дозволяють продемонструвати потужний вплив антиоксидантів навіть при місцевому застосуванні на тлі вираженого бактеріального запалення, який полягає у здатності цих засобів нормалізувати показники гуморальної ланки неспецифічної резистентності організму.

Таблиця 6.8

Рівень гемолізинів та гетерофільних аглютининів в сироватці крові щурів із експериментальним бактеріальним ринітом за умов лікування гелем «Імбирол» та маззю «Піносол» ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)

Показник, титр	I – інтактні щури	II – бактеріальний риніт	III – бактеріальний риніт + «Імбирол»	IV – бактеріальний риніт + «Піносол»
3-я доба експерименту				
ГЛ	4,51±0,35 [#]	3,39±0,38*	3,49±0,56*	3,51±0,37*
ГА	2,44±0,31 [#]	1,92±0,19*	1,93±0,42*	1,98±0,23*
14-а доба експерименту				
ГЛ	4,61±0,51 [#]	3,64±0,33*	4,84±0,33 [#]	4,73±0,44 [#]
ГА	2,51±0,34 [#]	1,62±0,41*	3,34±0,53 ^{#/*}	3,42±0,41 ^{#/*}

Примітки:

- * – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі інтактних тварин;
- # – $p < 0,05$ у порівнянні з показником в групі тварин з ринітом без лікування;
- n – кількість тварин у групі, 10.

Проведені дослідження дозволяють стверджувати, що застосування засобів з антиоксидантною активністю приводило до повної компенсації недостатності гуморального імунітету у щурів із експериментальним бактеріальним ринітом.

Висновки до розділу 6

1. Встановлено, що застосування антиоксидантів місцевої дії з лікувальною метою на тлі відтворення експериментального гострого хімічного і бактеріального ринітів у щурів призводить до суттєвого поліпшення перебігу

запального процесу. Лікувальний ефект гелю «Імбирол» та мазі «Піносол» з антиоксидантними властивостями відбувався за рахунок позитивного впливу на стан показників клітинної та гуморальної неспецифічної резистентності як на місцевому, так і системному рівнях. Так, до 14-ї доби експерименту спостерігали достовірне зростання при обох видах риніту, коли вони достовірно не відрізнялися від значень інтактного контролю ($p < 0,05$), рівня лізоциму, функціональної та метаболічної активності фагоцитів (ФІ, ФЧ, НСТ-тесту), активності НК-клітин, показників ГЛ та ГА.

2. При бактеріальному риніті концентрації ГА не тільки відновилися, а й достовірно збільшилися – для гелю «Імбирол» на 33% ($p < 0,05$) та мазі «Піносол» на 36,3% ($p < 0,05$) у порівнянні з показниками інтактної групи. Застосування засобів з антиоксидантною активністю за умов хімічного риніту повністю компенсувало недостатність власних клітинної та гуморальної ланок неспецифічної резистентності. Проведені дослідження дозволили продемонструвати потужний вплив антиоксидантів, який полягає у здатності таких засобів нормалізувати показники клітинної та гуморальної ланок неспецифічної резистентності організму, навіть при місцевому застосуванні на тлі вираженого бактеріального запалення.

Список праць:

1. Крижна С.І., Київська Ю.О., Козар В.В. Стан імунологічної резистентності в умовах експериментального бактеріального риніту та його фармакологічної корекції. Вісник проблем біології і медицини. – 2018. – Вип.1, Т.2(143). – С. 137-140.
2. Крижна С.І., Київська Ю.О., Козар В.В. Стан клітинної та гуморальної ланок імунітету в умовах експериментального риніту та його фармакологічної корекції. Вісник проблем біології і медицини. – 2018. – Вип.2, Т.3(144). – С. 144-147.
3. Крижна С.І., Київська Ю.О., Тіткова А.В., Багмут І.Ю. «Ступінь порушення імунітету в умовах експериментального риніту» тези у збірнику конференції «Здобутки клінічної та експериментальної медицини». 2018. С. 34-35.

4. Інформаційний лист № 141-2018 МОЗ України, Укрмедпатентінформ «Комплекс ефірних олій як потенційний коректор неспецифічного імунітету при ринітах різного генезу» Крижна С.І., Київська Ю.О.
5. S.I. Kryghna, O.I. Zalyubovska, T.I. Tiupka, Yu.A. Kievska. Features of the immune response in the experimental rhinitis and in the applying of gel "Imbirol". Conference "Theoretical and practical aspects of the use of biomedical markers in fundamental and applied medicine and biology. March 27-29 2018, Prague, The Czech Republic. Biomedical markers in fundamental and clinical medicine. Vol.2, №1, 2018. P. 75-76.
6. Kryzhna S.I., Kievska Yu.A., Tyupka T.I., Kozar V.V. APPLICATION OF NATURAL ANTIOXIDANTS IN THE COMPOSITION OF GEL "IMBIROL" FOR RHINITIS OF DIFFERENT GENESIS. Journal of education, helth and sport. Vol.2, №3, 2018. P. 47-50.

РОЗДІЛ VII

ГІСТОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ВИКОРИСТОВУВАНИХ АНТИОКСИДАНТІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ РИНИТАХ РІЗНОГО ГЕНЕЗУ

7.1. Гістологічне дослідження перебігу запалення і процесів регенерації слизової оболонки носових ходів при хімічному експериментальному риніті за природних умов його перебігу та на тлі застосування антиоксидантів

Встановлення попередніми дослідженнями цілої низки порушень прооксидантно-антиоксидантної системи та неспецифічної резистентності на експериментальних моделях ринітів дозволить досягти певного розуміння не тільки взаємозв'язку між розвитком запаленням і оксидативним стресом, але і обґрунтованості місцевого застосування засобів з антиоксидантною активністю. Так, було встановлено, що в патогенезі ринітів суттєве значення мають порушення в системі ПОЛ/АОЗ на місцевому (інтраназальні змиви) та загальному (сироватка крові) рівнях, що проявлялися в збільшенні в крові рівня продуктів ПОЛ, як первинних, так і вторинних, які відзначалися і наприкінці дослідження (2-го тижня). Також за цими показниками доведено неспроможність власної АОЗ компенсувати виражений окисний стрес у тварин з ринітом. Перебіг порушеного стану прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу відбувався на тлі низки реакцій з боку імунної відповіді, інтенсивної міграції Т-лімфоцитів у слизову оболонку носу та судинну стінку, що відбивалося на параметрах клітинного та гуморального неспецифічного імунітету. Така реакція також належить до найважливіших патогенетичних механізмів розвитку риніту. Наступним логічним кроком дослідження стало визначення морфологічних ознак пошкодження тканин носової порожнини та їх відповідності тяжкості клінічного перебігу, біохімічним, клініко-лабораторним зсувам на експериментальних моделях хімічного та бактеріального ринітів. Це дозволить оцінити за гістологічними критеріями тяжкість перебігу запально-деструктивних процесів стосовно ступеня

оксидативного стресу та реакції з боку імунної системи; визначити фармакотерапевтичну ефективність антиоксидантної терапії.

Спочатку дослідження проводились на моделі гострого запалення носової порожнини, викликаного їдким натрієм (експериментальний хімічний риніт). Дана модель була обрана з урахуванням її високої відтворюваності, нетривалого перебігу і відповідності характеру патології клінічній картині захворювання у людини. Патологію викликали шляхом впливу на слизову оболонку носа 40 % розчином їдкого натрію. Досліджена слизова оболонка присінку носу та бічної стінки носового ходу щурів через 7 та 14 днів після введення вологого тампону, просякненого їдким натрієм у ніздрю. В якості контролю була досліджена слизова оболонка присінку та бічної стінки носового ходу інтактних тварин.

Як показало проведене мікроскопічне дослідження, слизова оболонка присінку носу інтактних щурів вкрита або епідермісом, або багатошаровим плоским незроговілим епітелієм (в залежності від віддалення від ніздря) та має звичайний нормальний вигляд. На сполучнотканинному рівні, шар епітелію (власна пластинка слизової оболонки) та стан колагенового матриксу звичайний, клітинний вміст помірний, місцями видно коріння щетинкових волосин (рис. 7.1).

Слизова оболонка бічної стінки носового ходу без ушкоджень, вкрита багаторядним миготливим епітелієм, на деяких ділянках епітелій був дворядний, з помірною домішкою келихоподібних клітин. Власна пластинка слизової оболонки представлена пухкою сполучною тканиною, серед клітинних елементів розрізнялися нечисленні лімфоцити, поодинокі еозинофільні та нейтрофільні лейкоцити. Безпосередньо під епітелієм розташовані кровоносні судини, повнокровність яких варіювала. У підслизовому шарі видні кінцеві відділи слизово-серозних залоз. Епітелій залоз функціонально спокійний (рис. 7.2, 7.3).

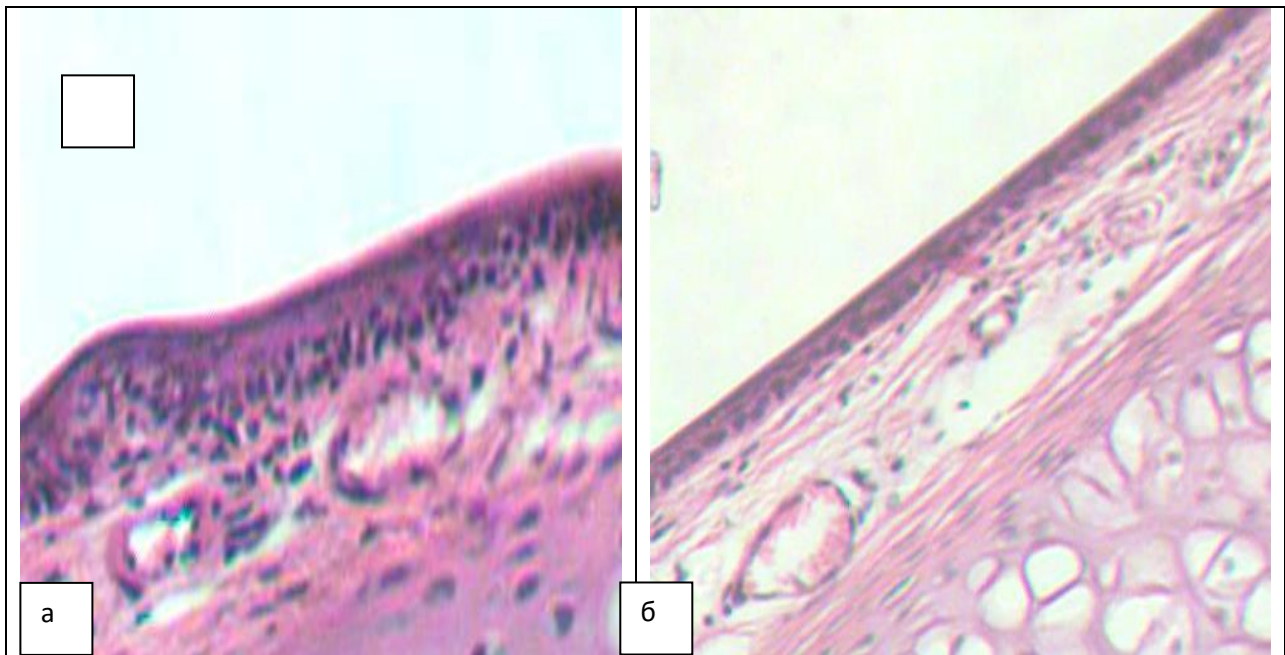


Рис. 7.1. Слизова оболонка присінку носу інтактного щура. Поверхня вкрита багат шаровим плоским зроговілим епітелієм, власна пластинка без змін, стан кровоносних судин нормальний: проксимальніше (а) та дистальніше (б) від ніздрі. Гематоксилін-еозин. $\times 250$.

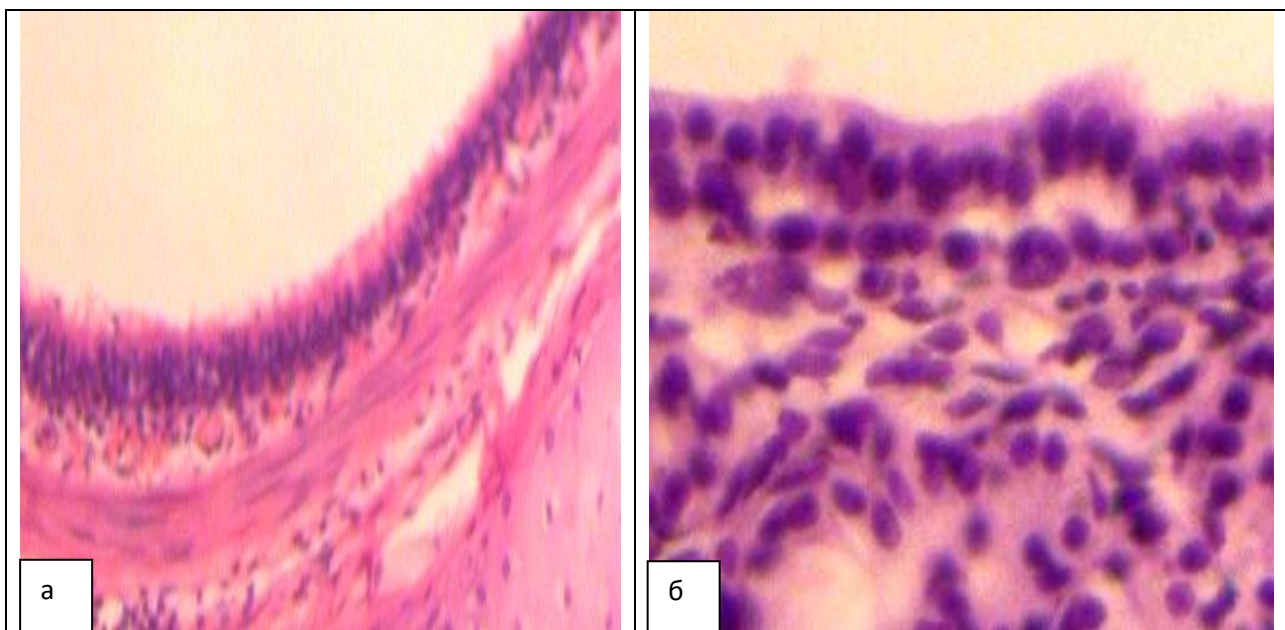


Рис. 7.2. Слизова оболонка бічної стінки носового ходу інтактного щура: багаторядний (а, $\times 200$) і дворядний (б, $\times 400$) миготливий епітелій, власна пластинка помірно клітинна, кровоносні судини в нормі. Гематоксилін-еозин.

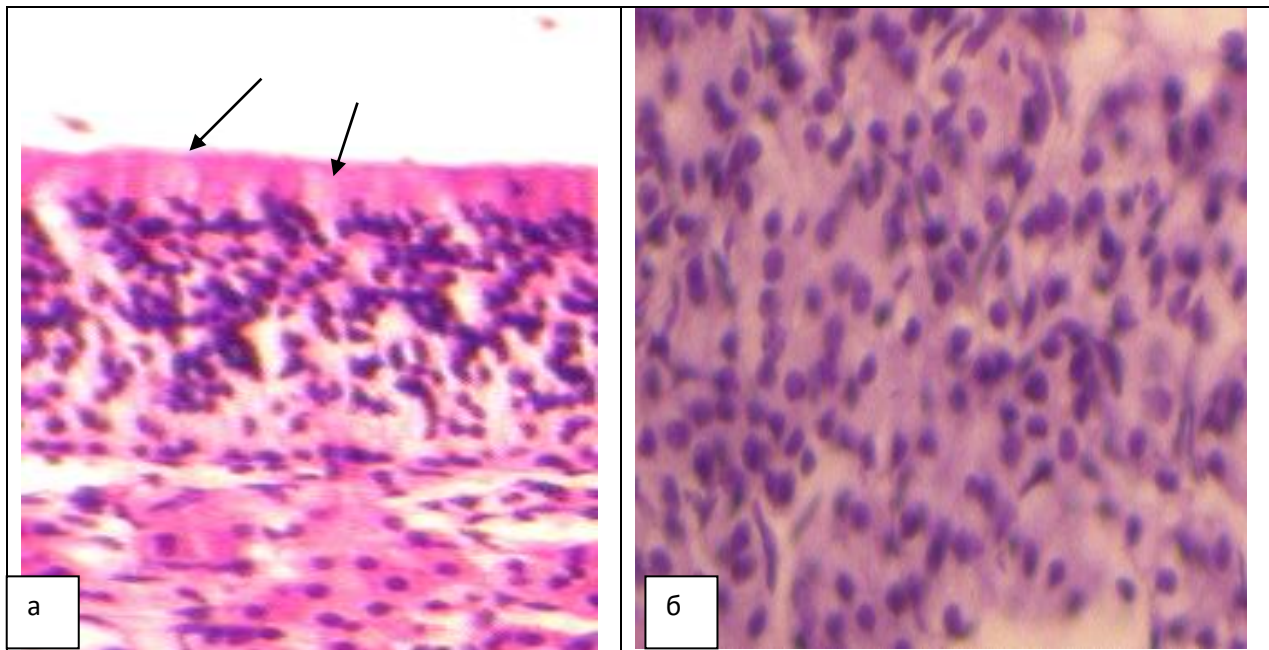


Рис. 7.3. Слизова оболонка бічної стінки носового ходу інтактного щура: а – келихоподібні клітини у епітелії; слизово-серозні залози у підслизовому шарі. Нормальна функціональна активність. Гематоксилін-еозин. $\times 400$.

Після травмування слизової оболонки їдким натрієм на моделі експериментального хімічного риніту на 7-й день у слизовій оболонці присінку носу виявлені дрібні ділянки з повністю зруйнованим епітеліальним пластом. Власна пластинка слизової оболонки густо інфільтрована мононуклеарами, колагенові волокна набрякли, у деяких волокнах спостерігається деструкція. На інших ділянках слизової оболонки присінку носу епітеліальний пласт виразно потовщений, епітеліальні клітини, особливо поверхневі, дезорганізовані, іноді цілими пластами десквамовані. У власній пластинці слизової оболонки зберігалися ознаки запальної реакції, набряк (рис. 7.4). Такі ознаки свідчать про наявність вираженого запального процесу на 7-у добу експерименту. Запальний процес розвивається відразу після пошкодження тканини

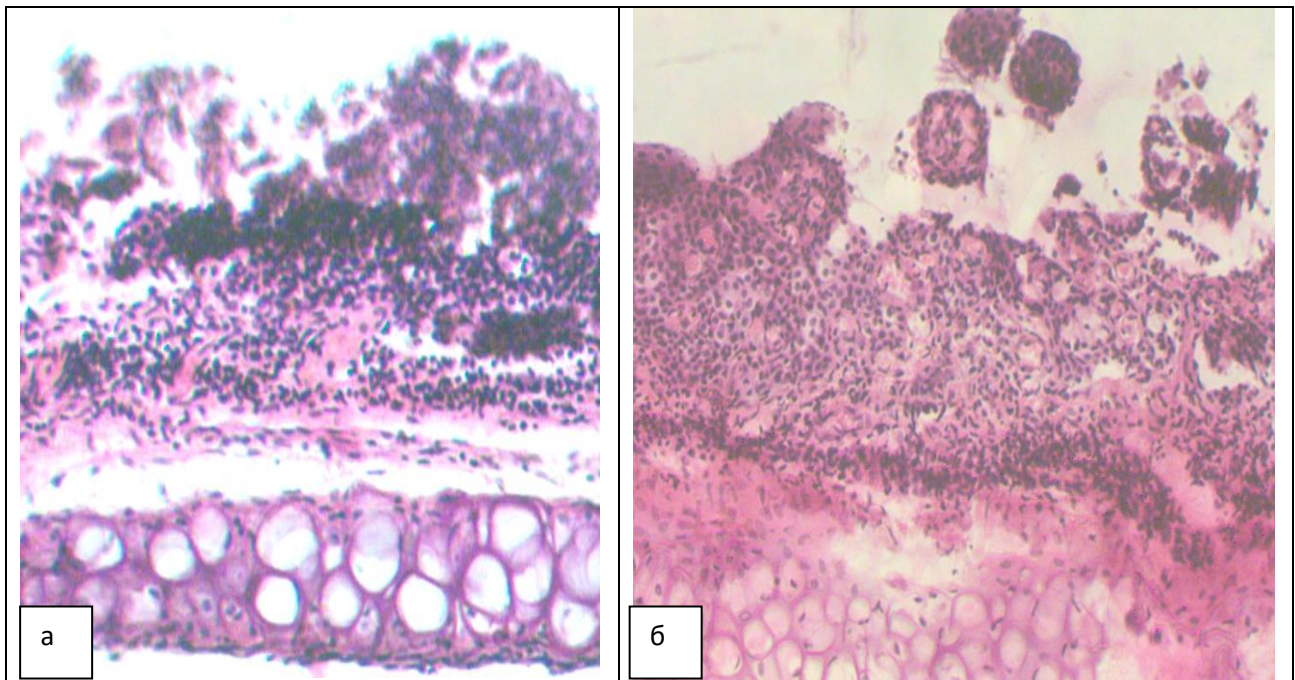


Рис. 7.4. Слизова оболонка присінку носу щура на 7-й день після травмування їдким натрієм: а – повна руйнація епітеліального пласта, запалення у власній пластинці, деструкція колагенових волокон; б – епітелій виразно потовщений, дезорганізація епітеліальних клітин, набряк та запалення у власній пластинці. Гематоксилін-еозин. $\times 200$.

На 14-у добу спостереження слизова оболонка стінки носового ходу щурів після хімічного опіку їдким натрієм часто виразно потовщена. Як сам епітелій, так і власна пластинка слизової оболонки, підслизовий шар виразно інфільтровані мононуклеарами. Епітелій слизово-серозних залоз у підслизовому шарі знаходиться у гіперактивному стані. Вивідні протоки залоз розширені, виведені на поверхню епітелію. На деяких ділянках багат шаровий миготливий епітелій пошкоджений. У одних клітинах зруйнований миготливий апарат (відторгнуті тільки апікальні відділи), у інших – зруйнована і ядровміщуюча частина. Відмічаються також місця з заміною типового для цієї зони епітелію на багат шаровий плоский з ознаками акантозу (рис. 7.5).

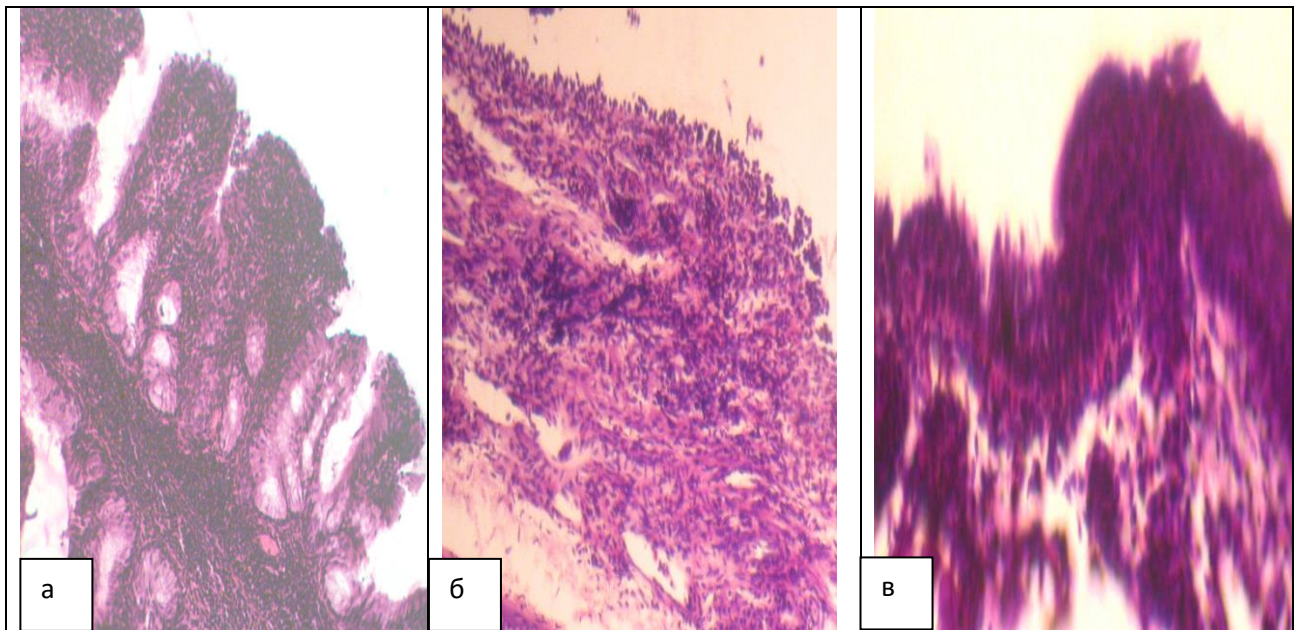


Рис. 7.5. Слизова оболонка бічної стінки носового ходу щура на 14-й день після травмування їдким натрієм: а – потовщення слизової оболонки, виразна продуктивна запальна реакція всіх шарів, гіперактивний стан епітелію залоз підслизового шару; б – пошкодження епітеліального пласта, запальна реакція у власній пластинці; в – заміна багатошарового миготливого епітелію на багатошаровий плоский, акантоз. Гематоксилін-еозин. а – $\times 200$, б-в – $\times 250$.

Раніше доведено ступінь впливу антиоксидантних засобів на перебіг окисного стресу та реакції з боку імунної системи за біохімічними та деякими клініко-лабораторними показниками. На даному етапі дослідження після встановлення морфологічних ознак розвитку риніту на експериментальній моделі хімічного пошкодження слизової оболонки носа у патологією щурів ми дослідили вплив гелю «Імбірол» і мазі «Піносол» як засобів з антиоксидантною дією природного походження.

Лікування тварин дослідних груп починали через 24 год після останнього введення їдкого натрію і проводили щоденно, для чого за допомогою палички, кінець якої загорнутий у вату, наносили невелику кількість препарату через носові отвори на передню частину слизової оболонки носа у кожную ніздрю до повного видужання тварин. Гістологічне дослідження впливу антиоксидантних засобів на перебіг риніту проведено на 7-й та 14-й дні експерименту.

Введення з лікувальною метою гелю «Імбирол» сприяло зменшенню патологічних змін у досліджених ділянках слизової оболонки дихальної порожнини носу вже до 7-ї доби. У присінку носа ділянки пошкодження епітеліального пласту дуже дрібні, одиночні, як правило, вже епітелізовані. Регенований епітелій не мав чіткого диференціювання шарів, за товщиною більший за нормальний. На інших ділянках цієї зони епітеліальний пласт також потовщений. У власній пластинці слизової оболонки або видні ознаки запалення та набряку колагенового матриксу, або ознаки запалення мінімальні, а колагеновий матрикс ущільнений, видні осередки клітин, схожих на молоді фібробласти (рис. 7.6).

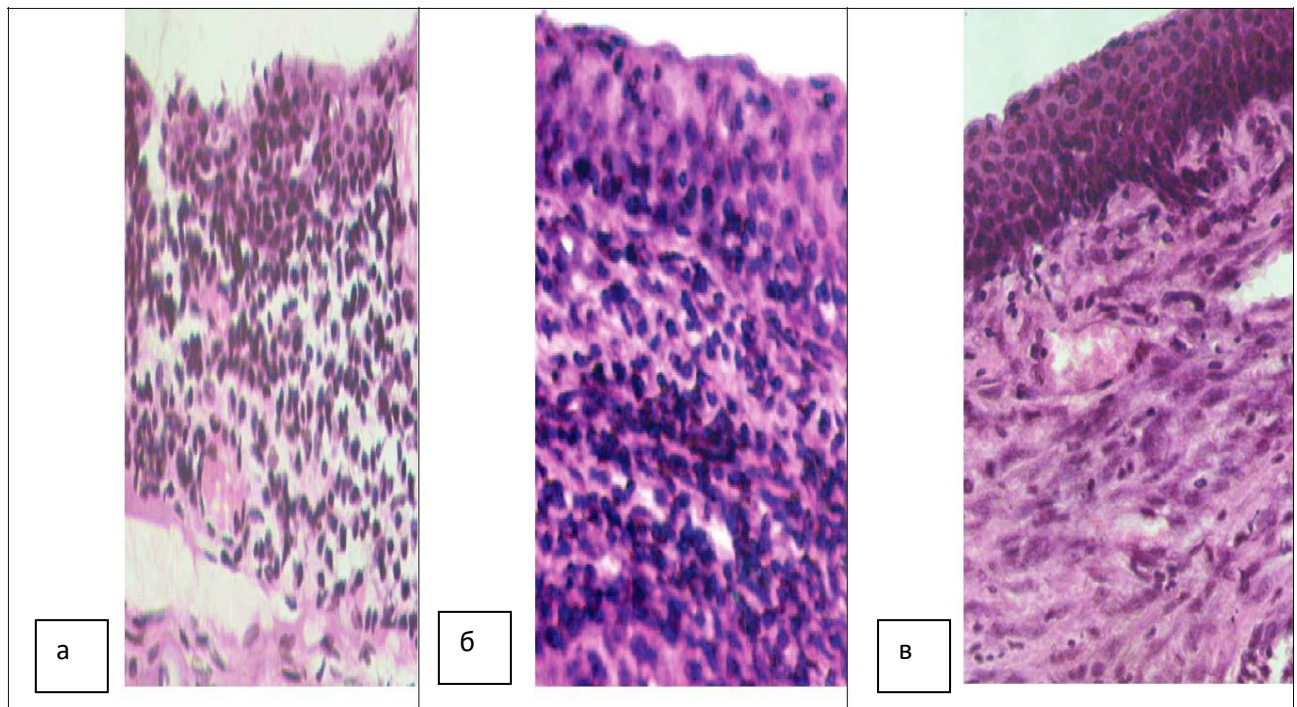


Рис. 7.6. Слизова оболонка присінку носу щура, якого лікували гелем «Імбирол», на 7-й день після травмування їдким натрієм: а – регенований епітелій прикриває колишню ділянку пошкодження, підвищена клітинна та судинна реакція у власній пластинці; б – потовщення епітеліального пласта, запалення у власній пластинці; в – колагеновий матрикс власної пластинки ущільнений, видно осередок клітин, схожих на молоді фібробласти. Гематоксилін-еозин. $\times 250$.

Крім того, простежені і ділянки слизової оболонки з нормальним станом епітелію і власної пластинки, лише у підслизовому шарі видні розширені лімфатичні судини (рис. 7.7).

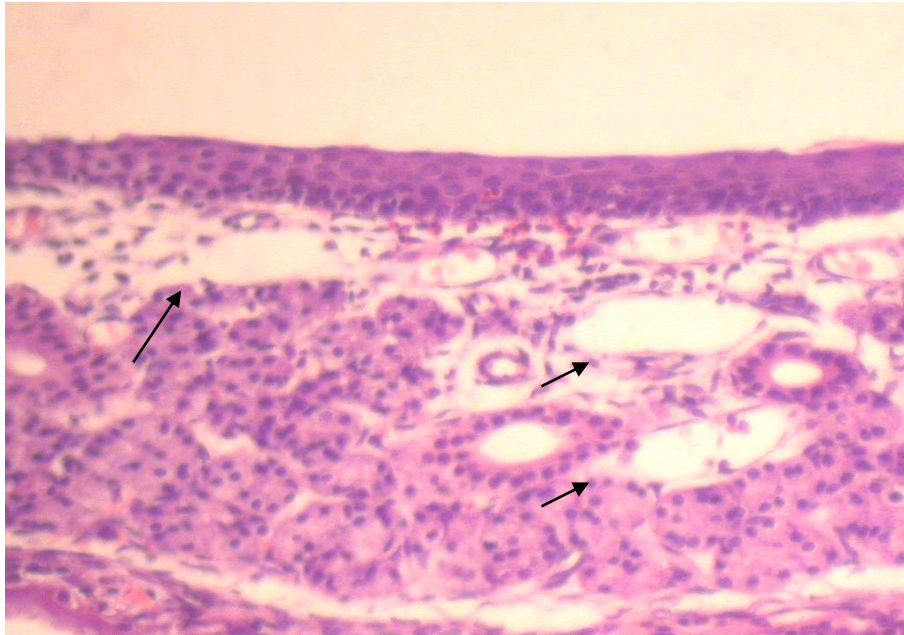


Рис. 7.7. Слизова оболонка присінку носу щура, якого лікували гелем «Імбирол», на 7-й день після травмування їдким натрієм. Епітелій та власна пластинка без змін, лімфатичні судини підслизового шару розширені. Гематоксилін-еозин. $\times 200$.

У слизовій оболонці бічної стінки носового ходу щурів, яких лікували гелем «Імбирол» на тлі хімічного опіку, в цілому епітеліальна вустілка збережена, а запальна реакція у власній пластинці та у підслизовому шарі знижена. Втім, де-не-де виявлені ділянки з дезорганізацією епітеліальних клітин багаторядного миготливого епітелію, підвищеною продуктивною реакцією у власній пластинці, але виразність цих змін поступалася такій у тварин з ринітом без лікування (рис. 7.8).

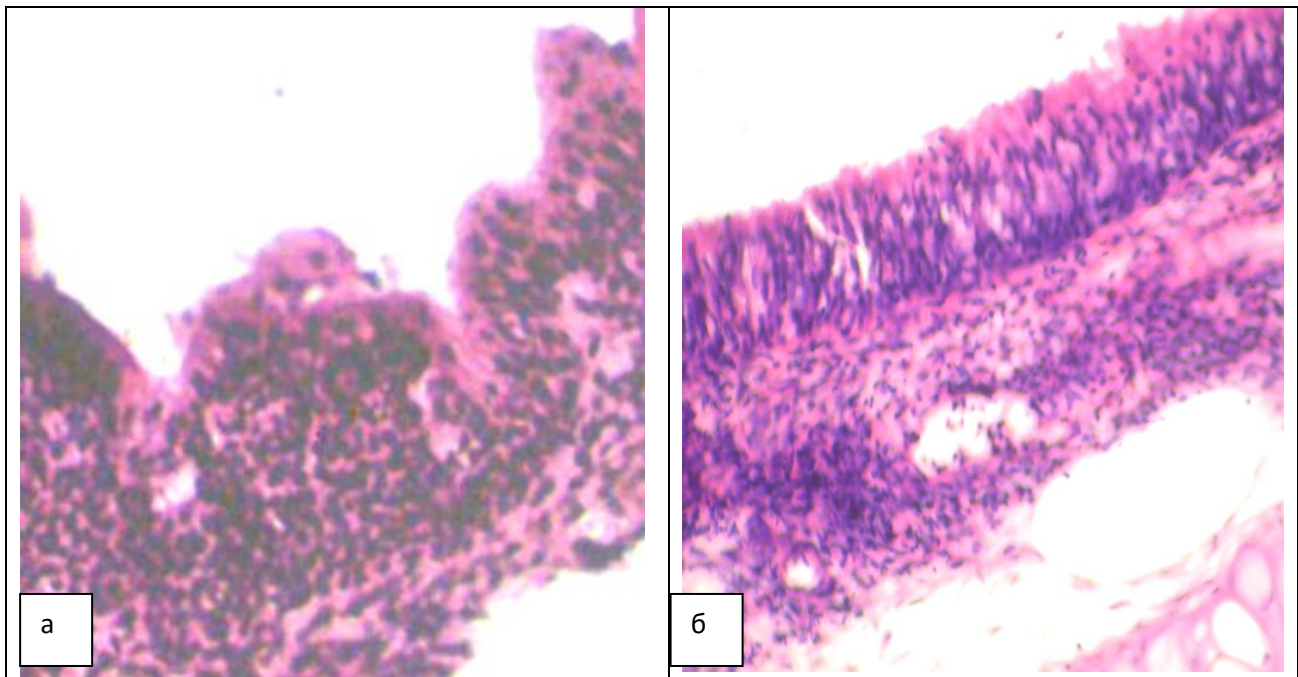


Рис. 7.8. Слизова оболонка бічної стінки носового ходу щура, якого лікували гелем «Імбирол», на 7-й день після травмування їдким натрієм: а – дезорганізація клітин багаторядного миготливого епітелію, запальна реакція у власній пластинці ($\times 250$); б – доволі спокійний стан епітелію, зниження запалення у власній пластинці ($\times 200$). Гематоксилін-еозин.

Після застосування мазі «Піносол» на дрібних ділянках слизової оболонки присінку носу видно руйнацію епітеліального пласта, дуже виразну запальну продуктивну реакцію у власній пластинці. Поза таких зон запальна реакція зменшувалася, епітеліальний покрив зберігав свою цілісність, але варіював за товщиною (рис. 7.9).

На значній протяжності бічної стінки носового ходу багаторядний миготливий епітелій слизової оболонки мав доволі типовий вигляд. В той же час, на деяких ділянках у нього був немов би «ущільнений» вигляд, апікальні відділи клітин невиразні, іноді видно пошкодження та десквамацію його. Виразність запальної реакції у власній пластинці варіювала (рис. 7.10).

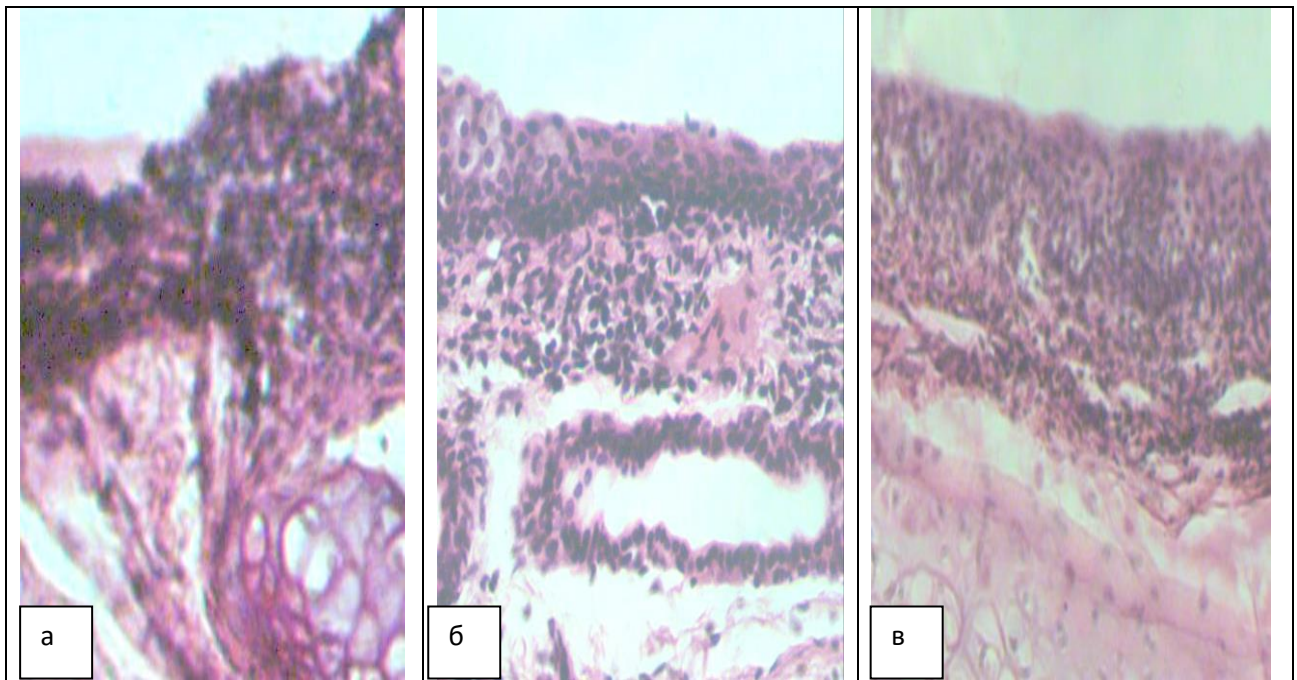


Рис. 7.9. Слизова оболонка присінку носу щура, якого лікували маззю «Піносол», на 7-й день після травмування їдким натрієм: епітелій зруйнований, у власній пластинці виразна продуктивна запальна реакція (а); зменшення запальної реакції у власній пластинці, варіювання епітелію за товщиною (б-в). Гематоксилін-еозин. а-б – $\times 250$, в – $\times 200$.

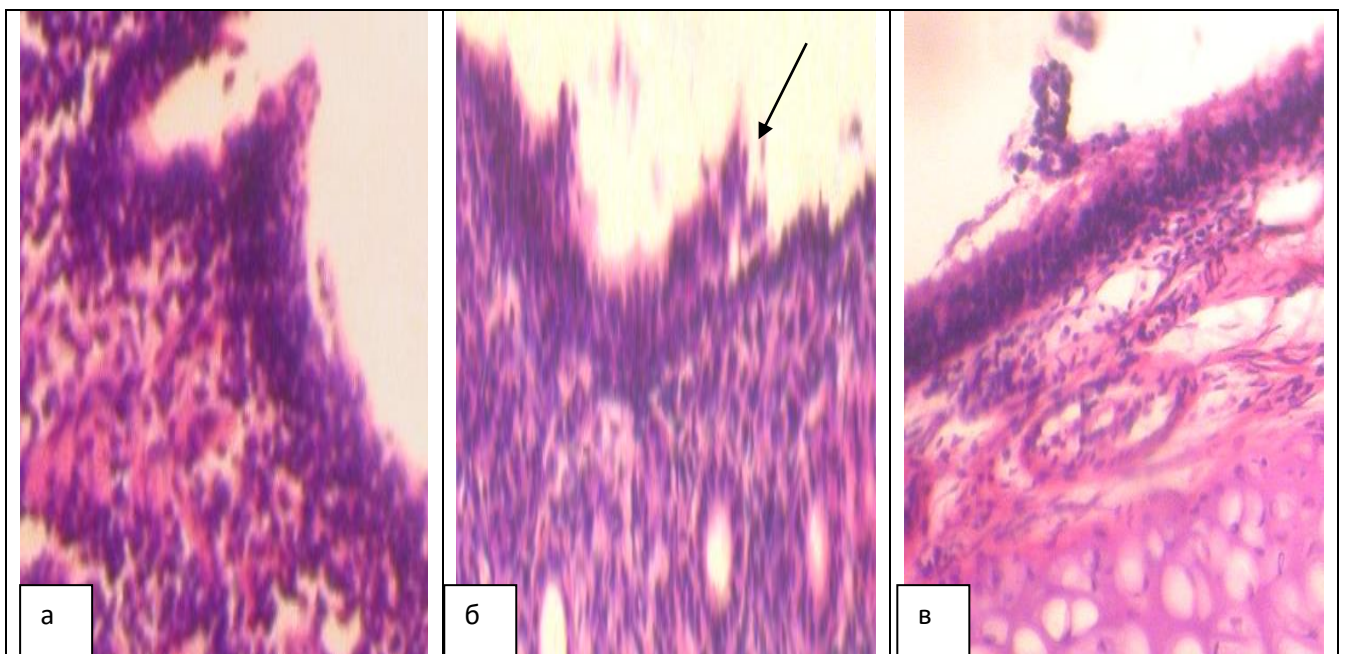


Рис. 7.10. Слизова оболонка бічної стінки носового ходу щура, якого лікували маззю «Піносол», на 7-й день після травмування їдким натрієм: а – «ущільнений» вигляд багаторядного миготливого епітелію; б – дрібний осередок пошкодження

епітелію; в – доволі типовий стан епітелію. Запальна реакція у власній пластинці варіює. Гематоксилін-еозин. а-б – $\times 400$, в – $\times 200$.

Таким чином, проведений мікроскопічний аналіз показав що введення у носові ходи щурів вологого тампону з їдким натрієм викликає вогнищеві некротично-деструктивні зміни в різних відділах слизової оболонки дихальної порожнини носу, проліферативну запальну реакцію у власній пластинці, гіперсекрецію епітеліальних клітин слизово-серозних залоз підслизового шару. Наведена мікроскопічна картина близька до такої при травматичному риніті людини [75]. Одночасно з деструктивними змінами у покривній вустілці слизової оболонки відбуваються регенераторні процеси. Відомо, що у процесі регенерації з новоутвореним епітелієм слизової оболонки носу відбуваються послідовні перетворення. Він з малодиференційованого одношарового епітелію перетворюється спочатку на малодиференційований багат шаровий, потім на перехідний, багат шаровий призматичний, багат шаровий плоский і, нарешті, на багаторядний миготливий [74]. У наших експериментах новоутворений епітелій у місцях пошкодження на день досліду трансформувався у багат шаровий плоский.

Після застосування місцевих засобів з антиоксидантною дією – гелю «Імбирол» і мазі «Піносол» – на тлі опіку у щурів зменшувалися альтеративні прояви у епітеліальній вустілці досліджених відділів слизової оболонки носу, виразність запальної реакції у власній пластинці, нормалізувалася функціональна активність слизово-серозних залоз. Застосування таких препаратів прискорює регенераторні процеси у пошкодженому епітелії, тому на день досліду, на відміну від тварин без лікування, новоутворений епітелій вже мав типовий багаторядний миготливий вигляд. За виразністю позитивного впливу на стан слизової оболонки носу гель «Імбирол» не поступається мазі «Піносол».

7.2. Гістологічне дослідження перебігу запалення і процесів регенерації слизової оболонки носових ходів при бактеріальному

експериментальному риніті за природних умов його перебігу та на тлі застосування антиоксидантів

Наступною експериментальною моделлю, на якій досліджувалися морфологічні зміни, був бактеріальний риніт. Досліджена слизова оболонка присінку носу та бічної стінки носового ходу щурів через 14 днів після інтраназального одноразового введення добової культури музейного штаму *Staphylococcus aureus* (в кожний носовий хід) Контролем були інтактні тварини (див. підрозділ 7.1, рис. 7.1, 7.2, 7-3).

На 14-й день після інфікування *Staphylococcus aureus* у щурів з ринітом без лікування збільшена ширина епітеліального пласта слизової оболонки присінку носу порівняно з інтактним контролем. У багатошаровому плоскому епітелії видна вакуольна дистрофія епітеліальних клітин, відсутня чітка межа між епітелієм та власною пластинкою слизової оболонки. У самій власній пластинці значно збільшена присутність мононуклеарів, місцями нейтрофільних лейкоцитів, особливо у субепітеліальних зонах. Іноді навіть видно проникнення лейкоцитарних клітин у епітеліальний шар. Колагеновий матрикс власної пластинки набряклий (рис. 7.11).

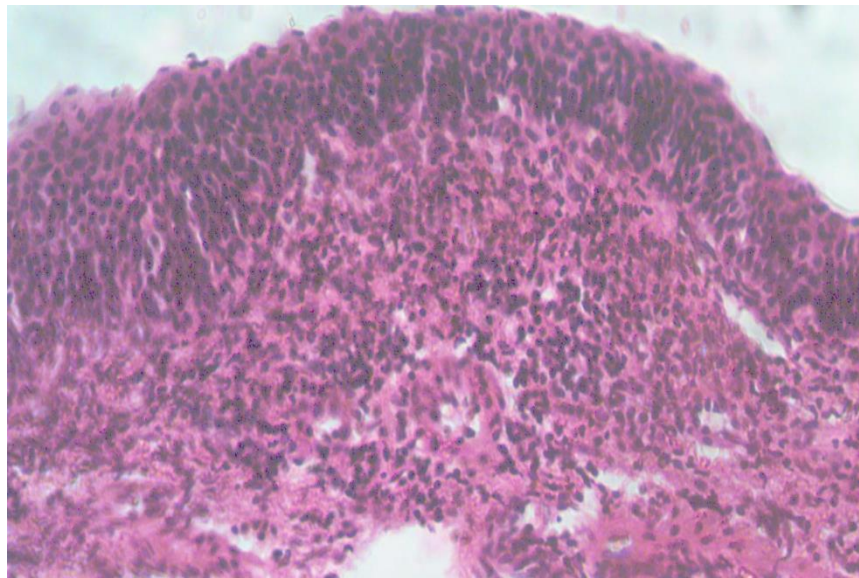


Рис. 7.11. Слизова оболонка присінку носу щура на 14-й день після інфікування *Staphylococcus aureus*. Збільшення товщини епітеліального пласта, дистрофія епітеліальних клітин, нечіткість межі з власною пластинкою слизової оболонки.

Збільшення клітинного вмісту, набряк колагенових волокон власної пластинки. Гематоксилін-еозин. $\times 250$.

У слизовій оболонці бічної стінки носового ходу багаторядний миготливий епітелій доволі часто дезорганізований, місцями видно десквамацію клітин, рідко – практичне оголення строми. У збереженому епітелії збільшена численність келихоподібних клітин, вони у стані гіперсекреції, на поверхні місцями видно дрібні осередки колонізації мікроорганізмів (рис. 7.12). Власна пластинка слизової оболонки і часто підслизовий шар інфільтровані клітинами запалення, кровоносні судини субепітеліально та у підслизовому шарі розширені, видно стаз еритроцитів. Епітеліальні клітини слизово-серозних залоз у стані підвищеної активації секретотворення (рис. 7.13).

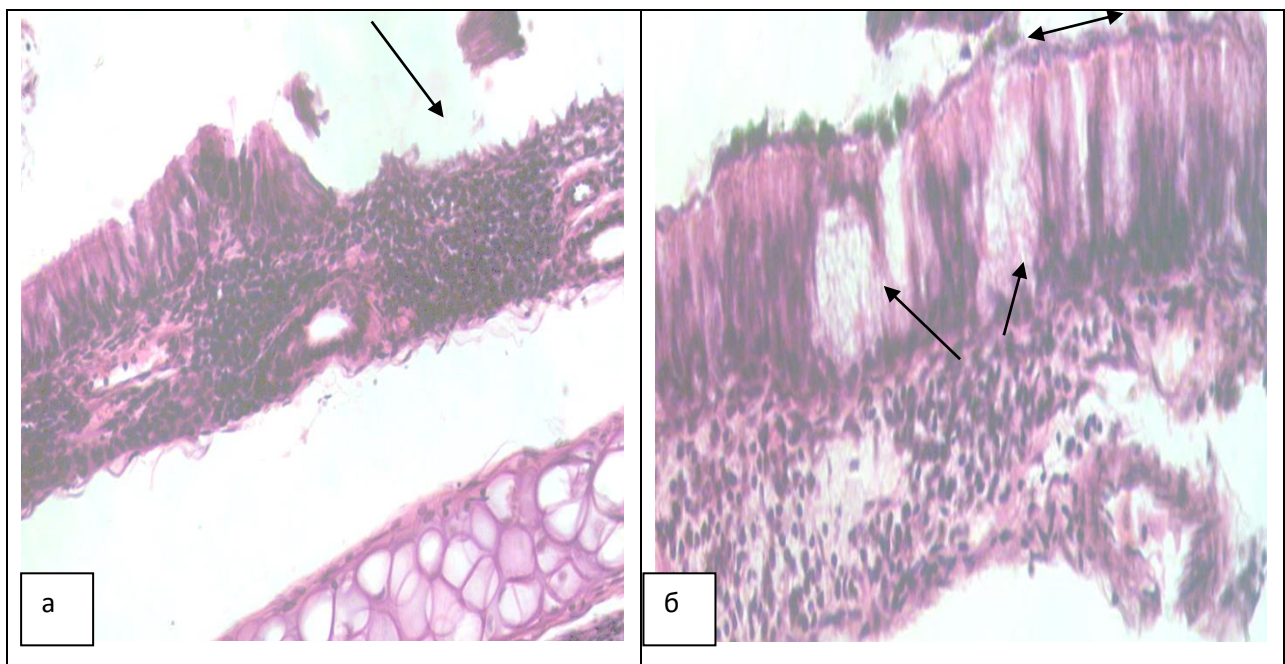


Рис. 7.12. Слизова оболонка бічної стінки носового ходу щура на 14-й день після інфікування *Staphylococcus aureus*: а – десквамація епітеліальних клітин, оголення строми; б – осередки колонізації мікроорганізмів на поверхні, збільшення чисельності та функціональної активності келихоподібних клітин у епітелії. Запалення у власній пластинці. Гематоксилін-еозин. $\times 200$.

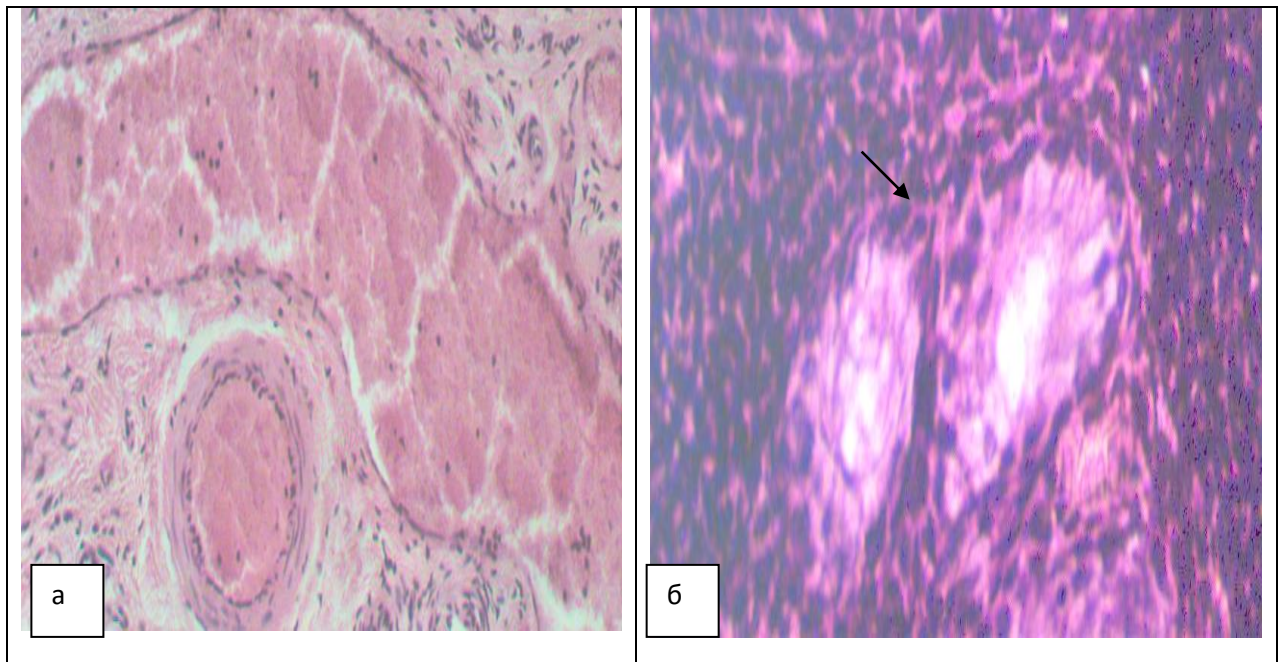


Рис. 7.13. Слизова оболонка стінки вентрального носового ходу щура на 14-й день після інфікування *Staphylococcus aureus*: а – виразне розширення кровоносних судин, стаз крові ($\times 200$); б – гіперсекреція епітеліальних клітин слизово-серозних залоз, виразне запалення підслизового шару ($\times 400$). Гематоксилін-еозин.

Після інтраназального введення інфікованим *Staphylococcus aureus* щурам гелю «Імбірол» також виявлені зміни у стані досліджених зон слизової оболонки носу на 14-й день, але прояви цих змін були менші порівняно з тваринами з ринітом без лікування. Так, у слизовій оболонці присінку носа ширина епітеліального пласта на одних ділянках залишалася потовщеною, зберігалася доволі виразна запальна клітинна та судинна реакція, хоча за виразністю ці ознаки поступалися таким у тварин з ринітом без лікування. На інших ділянках стан слизової оболонки дуже наближався до норми (рис. 7.14).

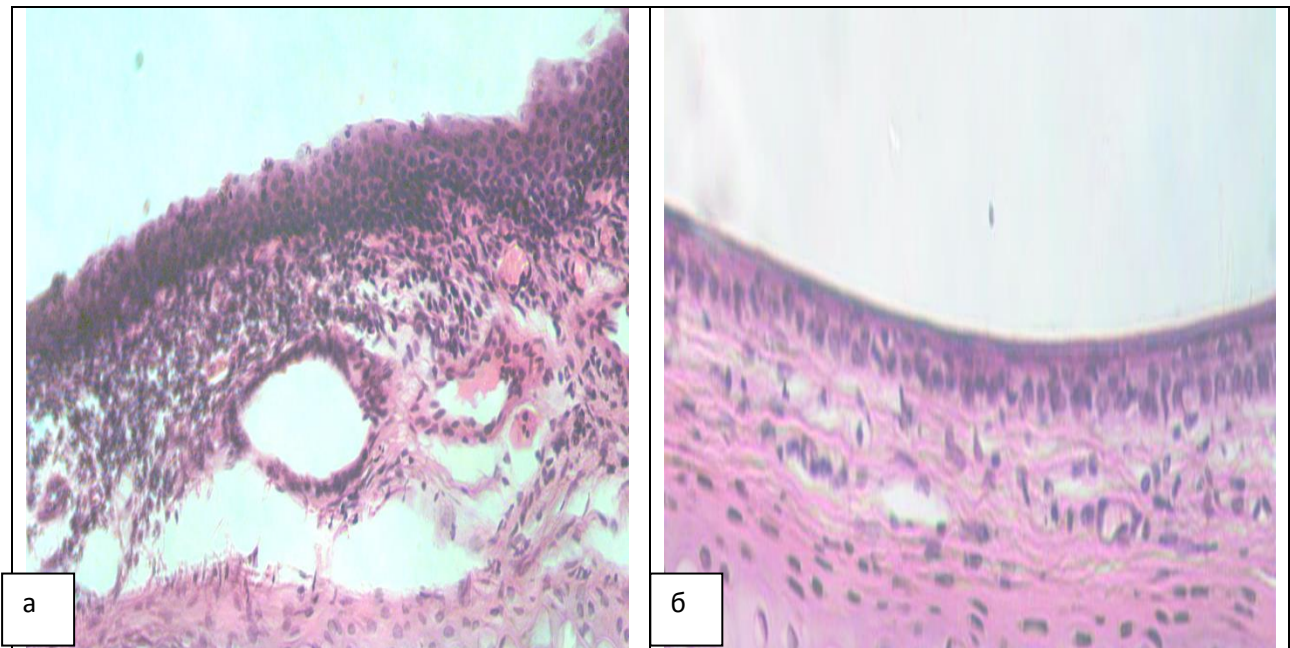


Рис. 7.14. Слизова оболонка присінку носу щура, якого лікували гелем «Імбирол», на 14-й день після інфікування *Staphylococcus aureus*: а – потовщення епітеліального пласта, запальна реакція у власній пластинці; б – стан епітелію та власної пластинки відповідає нормі. Гематоксилін-еозин. $\times 200$.

Достатньо виразно зменшена запальна реакція і у слизовій оболонці бічної стінки носового ходу у цих щурів. Багаторядний миготливий епітелій в цілому збережений, лише місцями видно дрібні ділянки з десквамацією, порушенням цілісності епітеліальних клітин (рис. 7.15). Келихоподібні клітини серед епітеліальних, хоча і збільшені за чисельністю, але знаходилися у менш виразно функціонально активному стані. Епітеліальні клітини слизово-серозних залоз також значно менше функціонально активні, ніж у тварин з ринітом без лікування (рис. 7.16).

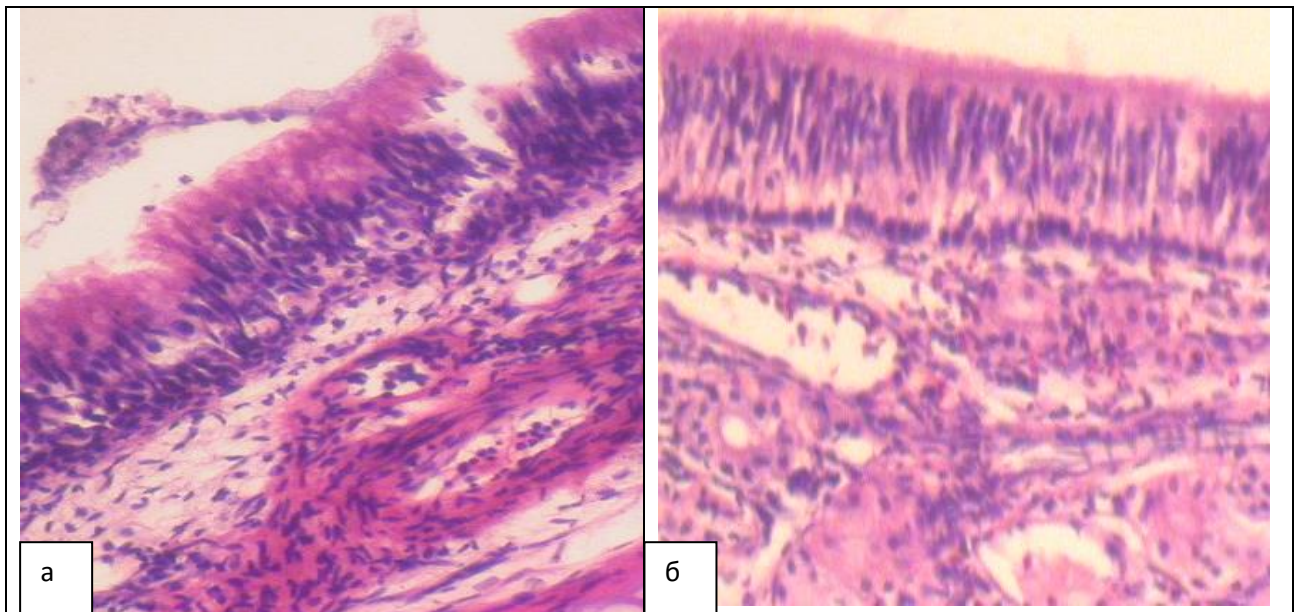


Рис. 7.15. Слизова оболонка бічної стінки носового ходу щура, якого лікували гелем «Імбирол», на 14-й день після інфікування *Staphylococcus aureus*: а – дрібна ділянка з десквамацією епітеліальних клітин; б – нормальний стан багаторядного миготливого епітелію. Залишки запалення у стромі власної пластинки. Гематоксилін-еозин. а-б $\times 250$.

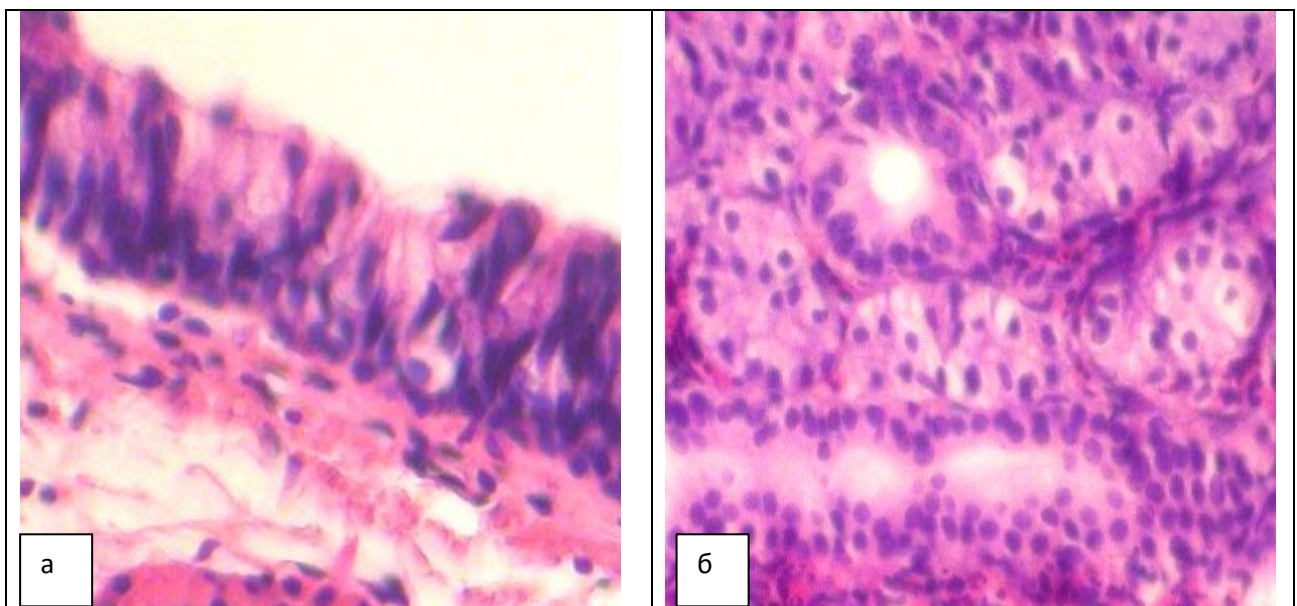


Рис. 7.16. Слизова оболонка бічної стінки носового ходу щура, якого лікували гелем «Імбирол», на 14-й день після інфікування *Staphylococcus aureus*: а – келихоподібні клітини у епітеліальному пласті помірно збільшені за чисельністю та функціональною активністю; б – функціональна активність епітелію носових залоз помірно підвищена. Гематоксилін-еозин. $\times 400$.

Після інтраназального введення мазі «Піносол» на тлі інфікування слизової оболонки носу *Staphylococcus aureus* у стінці присінку носу щурів простежені різні за виразністю ознаки запалення власної пластинки та потовщення епітелію, повнокровність та гіперемія кровоносних судин (рис. 7.17).

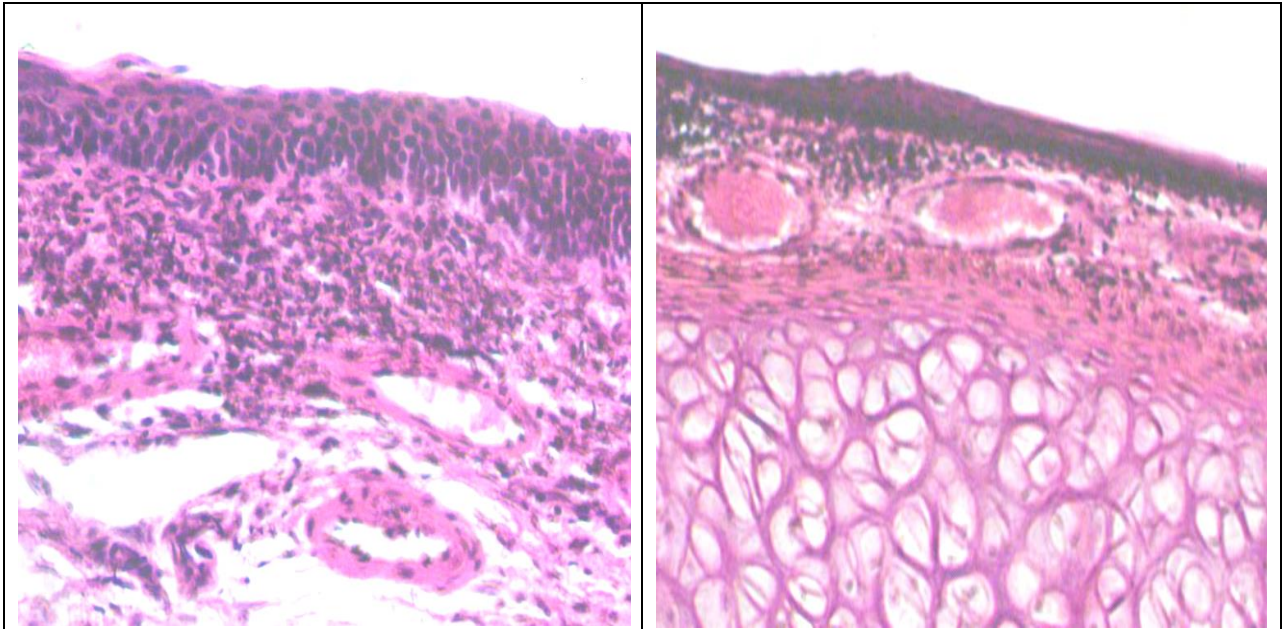


Рис. 7.17. Слизова оболонка присінку носу щура, якого лікували маззю «Піносол», на 14-й день після інфікування *Staphylococcus aureus*. Різні за виразністю потовщення епітелію та запальна реакція у власній пластинці: а – виразні ($\times 250$); б – більш помірні ($\times 200$). Гематоксилін-еозин.

У слизовій оболонці бічної стінки носового ходу місцями видно деструкцію епітелію, підвищену десквамацію його (рис. 7.18). Келихоподібні клітини у стані підвищеної функціональної активності, слизово-серозні залози також активно функціонують (рис. 7.19). У власній пластинці підвищений клітинний вміст, кровоносні судини часто повнокровні.

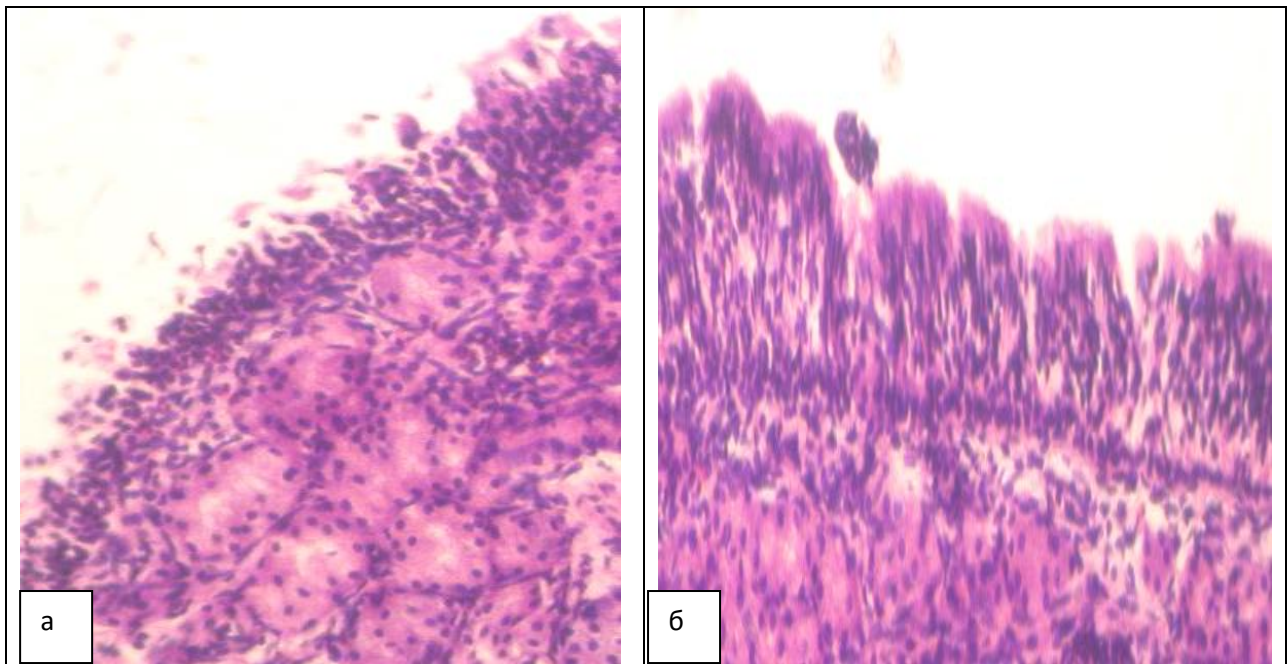


Рис. 7.18. Слизова оболонка бічної стінки носового ходу щура, якого лікували маззю «Піносол», на 14-й день після інфікування *Staphylococcus aureus*: а – дезорганізація багаторядного миготливого епітелію; б – помірна десквамація епітеліальних клітин, підвищення клітинного вмісту у власній пластинці. Гематоксилін-еозин. $\times 250$.

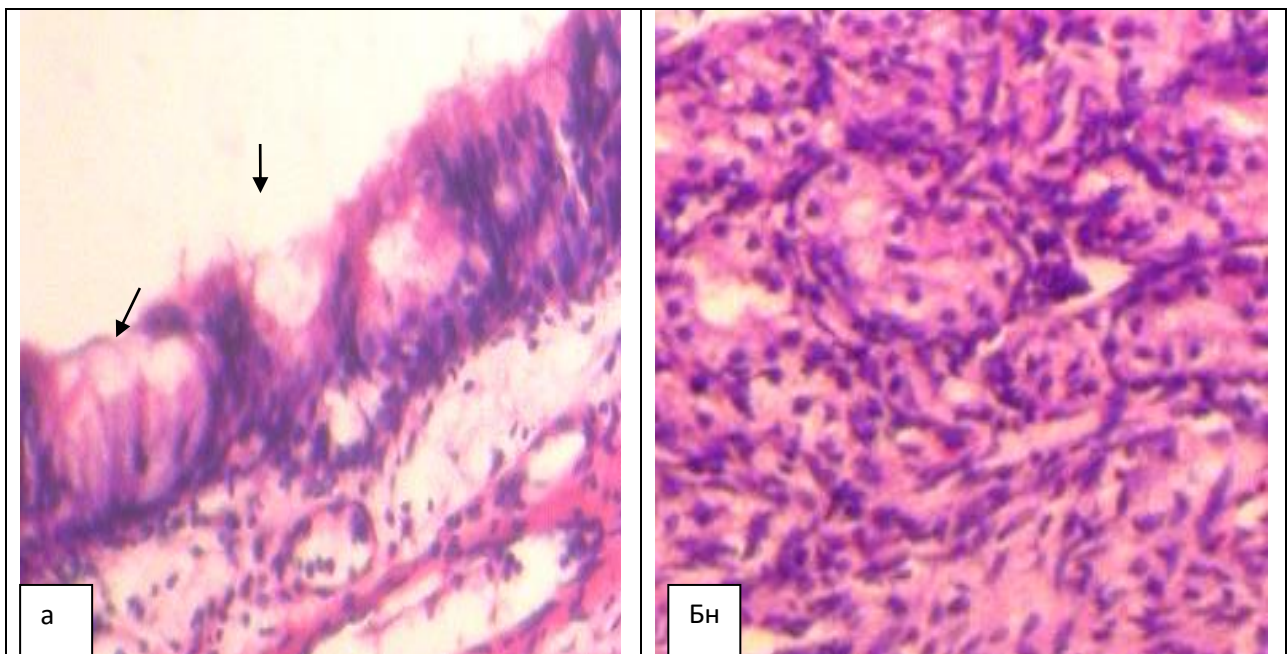


Рис.7.19. Слизова оболонка бічної стінки носового ходу щура, якого лікували маззю «Піносол», на 14-й день після інфікування *Staphylococcus aureus*: а – функціональна активність та чисельність келихоподібних клітин підвищена

(×200); б – епітеліальні клітини слизово-серозних залоз функціонально активні (×250). Гематоксилін-еозин.

Отже, отримані морфологічні дані свідчать, що введення щурам у носові ходи добової культури музейного штаму *Staphylococcus aureus* у тварин з ринітом без лікування призводить до виникнення у слизовій оболонці дихальної порожнини носу низки патологічних змін: вогнищевої деструкції епітелію, гіперплазії та гіперсекреції келихоподібних клітин, виразної запальної реакції у власній пластинці слизової оболонки та у підслизовому шарі, повнокровності судин різного калібру, гіперпродукції слизу залозами підслизового шару. Наведена мікроскопічна картина близька до такої при бактеріальному риніті у людини [75].

Лікування засобами з антиоксидантною дією – гелем «Імбирол» і маззю «Піносол» до 14-ї доби спостереження знижує виразність наведених вище морфологічних ознак риніту: на тлі бактеріального запалення у щурів зменшувалися альтеративні прояви у епітеліальній вустілці досліджених відділів слизової оболонки носу, виразність запальної реакції у власній пластинці, нормалізувалася функціональна активність слизово-серозних залоз.

Висновки до розділу 7

1. Гістологічне дослідження експериментального хімічного риніту виявило розвиток некомпенсованих вогнищевих некротично-деструктивних змін у різних відділах слизової оболонки дихальної порожнини носа, проліферативної запальної реакції у власній пластинці, гіперсекреції епітеліальних клітин слизово-серозних залоз підслизового шару. Перебіг регенеративних процесів відбувався на тлі спотвореної регенерації: новоутворений епітелій у місцях пошкодження до 14-го дня досліду трансформувався у багатошаровий плоский. Встановлено, що наведена мікроскопічна картина близька до такої при травматичному риніті людини.

2. Установлено, що відтворення експериментального бактеріального риніту за допомогою *Staphylococcus aureus* призводить до розвитку низки

патологічних змін у слизовій оболонці дихальної порожнини носа: вогнищевої деструкції епітелію, гіперплазії та гіперсекреції келихоподібних клітин, виразної запальної реакції у власній пластинці слизової оболонки та у підслизовому шарі, повнокровності судин різного калібру, гіперпродукції слизу залозами підслизового шару, що спостерігалися протягом експерименту до 14-го дня. Наведена мікроскопічна картина близька до такої при бактеріальному риніті людини.

3. Доведено позитивний лікувальний вплив застосування місцевих засобів із антиоксидантною дією при експериментальних ринітах у щурів: зменшувалися альтернативні прояви в епітеліальній вустіліці досліджених відділів слизової оболонки носа, виразність запальної реакції у власній пластинці, нормалізувалася функціональна активність слизово-серозних залоз, прискорювався регенераторний процес у пошкодженому епітелії, що призводило до формування типового багаторядного миготливого епітелію вже на 7-й день досліду. До 14-ї доби спостереження функціональна активність слизово-серозних залоз нормалізувалася.

Список праць:

1. Крижна С.І., Київська Ю.О., Козар В.В., Багмут І.Ю. Дослідження впливу гелю «Імбирол» на морфологічний стан слизової носу щурів при моделюванні травматичного риніту. Актуальні проблеми транспортної медицини. – 2017. – №2(48). – С.66-70.

РОЗДІЛ VIII

ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ВИКОРИСТОВУВАНИХ АНТИОКСИДАНТІВ ЗА КЛІНІЧНИМИ ОЗНАКАМИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ХІМІЧНОМУ РИНІТІ

Встановлення гістологічних ознак перебігу експериментальної моделі риніту дозволило провести наступний етап дослідження щодо встановлення відповідності клінічним ознакам виражених запально- деструктивних процесів слизової оболонки носа. До того ж, проведення бальної оцінки клінічних ознак у щурів різних груп експерименту дозволить більш чітко оцінити результати впливу засобів з антиоксидантною дією – гелю «Імбирол» та мазі «Піносол» – на виразність патологічних змін у слизовій оболонці носу щурів.

Клінічну картину перебігу гострого риніту на моделі хімічного риніту та лікувальну ефективність препаратів оцінювали за зміною клінічної картини ураження (інтенсивність носової секреції), загального стану тварин, масо- і термометрії. Інтенсивність носової секреції оцінювали в балах за наступною, запропонованою нами, схемою:

- 0 балів – ознака відсутня;
- 1 бал – ознака виражена слабко;
- 2 бали – ознака виражена помірно;
- 3 бали – ознака виражена сильно.

При наявності гною в виділеннях до одержаної кількості балів додавали 1 бал.

Загальний стан тварин оцінювали за динамікою маси тіла. Аналіз динаміки маси тіла дозволяє зробити висновок про стан загальнотрофічних процесів в організмі тварин, що, у свою чергу, дозволяє оцінити ступінь вираженості запальної реакції.

Всі вказані функціональні показники стану організму експериментальних тварин вивчали до початку експерименту (вихідні дані), на 3-ю добу

експерименту (після розвитку патології до початку лікування), на 5-у, 7-у, 10-у, 14-у добу експерименту. Результати досліджень наведені у таблиці 8.1.

У результаті дії їдкою натрію на слизову оболонку носової порожнини, на 3-ю добу експерименту в усіх тварин розвиваються виражені симптоми гострого запалення, які характеризуються гіперемією і набряком м'яких тканин носа, появою спочатку слизистих, потім слизисто-гнійних виділень з носа, через що зовнішній вигляд щурів був неохайний, шерсть біля мордочки була мокрою і брудною. У тварин дослідних та контрольної груп інтенсивність носової секреції оцінена від 2-х до 4-х балів, в середньому цей показник дорівнював 3 бали.

Запальний процес в носовій порожнині супроводжувався зниженням загальнотрофічних процесів, про що свідчить падіння маси тіла у тварин з ринітом (3-я доба експерименту) та достовірне підвищення температури тіла відносно вихідних даних на цьому етапі дослідження.

Як видно з отриманих результатів, препарати «Імбирол» і «Піносол» проявили виражену протизапальну активність, яка обумовлюється як місцевою дією на уражену слизову оболонку, так і загальним впливом на загальнотрофічні показники експериментальних тварин.

У експерименті відмічали, що у тварин, яким інтраназально наносили гель «Імбирол», перебіг гострого риніту був менш інтенсивним, ніж у тварин без лікування. Достовірне зниження інтенсивності носової секреції відносно риніту без лікування спостерігали вже після 2-х днів лікування (5-й день експерименту). Після 12-ти днів лікування (14-а доба експерименту) гелем «Імбирол» у тварин не спостерігали проявів риніту.

Таблиця 8.1

Показники запально-деструктивних процесів на моделі експериментального хімічного риніту за умов застосування гелю «Імбирол» і мазі «Піносол» (n=6)

Показники	Строки дослідження	Риніт без лікування	Риніт + гель «Імбирол»	Риніт + мазь «Піносол»
Інтенсивність носової секреції, бали	3 доба експерименту	3	2,83	3,00
	5 доба експерименту	2,5	1,5	1,50
	7 доба експерименту	2,5	1,17	1,17**
	10 доба експерименту	1,67	0,83	0,50**
	14 доба експерименту	0,83	0,16	0,16
Температура тіла, С	Вихідні дані	37,13±0,13	37,27±0,22	37,73±0,23
	3 доба експерименту	39,20±0,37*	39,87±0,22*	39,65±0,38*
	5 доба експерименту	38,97±0,15*	37,65±0,30**	37,57±0,25**
	7 доба експерименту	39,18±0,25*	37,32±0,16**/**	38,05±0,25**
	10 доба експерименту	38,03±0,18*	37,28±0,15**/**	38,07±0,23
	14 доба експерименту	37,88±0,18	36,93±0,28**/**	38,05±0,32
Приріст маси тіла, г	3 доба експерименту	-80±48	-83±36	-1,33±56
	5 доба експерименту	-30±36	21±16	47±32
	7 доба експерименту	18±13	33±12	-2±12
	10 доба експерименту	-27±30	25±30	22
	14 доба експерименту	-10±13	13±27	-37±36*

Примітка:* – відхилення достовірне по відношенню до вихідних даних (p<0,05);

** – відхилення достовірне по відношенню до показника у тварин з ринітом без лікування (p<0,05);

*** – відхилення достовірне по відношенню до показника при застосуванні мазі «Піносол» (p<0,05).

На тлі введення мазі «Піносол» достовірно зниження інтенсивності носової секреції відносно риніту без лікування спостерігали після 5-ти днів лікування (на 7-у та 10-у добу експерименту) та наприкінці експерименту (14-а доба). Під впливом гелю «Імбирол» і мазі «Піносол» спостерігали достовірно зменшення температури тіла по відношенню до риніту без лікування протягом всього досліду. На 5-у добу експерименту показники температури тіла набували рівня вихідних даних.

Зазначені зміни загального стану тварин у поєднанні зі змінами клінічної картини риніту у дослідних тварин свідчать про виражені протизапальні властивості гелю «Імбирол» і мазі «Піносол». Аналіз динаміки маси тіла у тварин, яких лікували, свідчить про покращення загальнотрофічних процесів в організмі тварин, що проявляється в зменшенні падіння маси тіла протягом досліду в порівнянні з ринітом без лікування. При цьому, починаючи з 5-ї доби експерименту, тварини набирали масу тіла.

Таким чином, співставлення ефективності досліджуваних препаратів показало, щогель «Імбирол» як і мазь «Піносол» на моделі гострого запалення носової порожнини у щурів, викликаного їдким натрієм, проявляють однакову виражену протизапальну активність, яка проявляється як місцевим впливом на уражену слизову оболонку, так і резорбтивним – на загальнотрофічні процеси в організмі експериментальних тварин.

Після завершення експерименту на зрізах проводили напівкількісну оцінку стану слизової оболонки досліджених відділів носу за наступними показниками: некроз слизової оболонки, деструкція епітелію, запальна реакція у власній пластинці слизової оболонки та підслизовому шарі, функціональна активність келихоподібних клітин та епітеліальних клітин слизово-серозних залоз підслизового шару. Оцінку ознак здійснювали за 4-х бальною системою, згідно якої: 0 балів – зміни відсутні; 1 бал – зміни слабкі; 2 бали – зміни помірні; 3 бали – зміни виражені. За основу напівкількісної зорової оцінки взято метод В.В. Соколовського [73].

Таблиця 8.2.

Напівкількісна оцінка виразності морфологічних ознак патологічного процесу у слизовій оболонці носу щурів при травмуванні їдким натрієм на 14-й день (n = 6)

Група щурів	Присінок носу		Носовий хід				
	Потовщен ня епітелію	Запальна реакція у власній пластинці слизової оболонки	Деструкція епітелію	Функціональна активність		Запальна реакція	
				Келихоподіб них клітин	Епітеліальних клітин слизово- серозних залоз	Власна пластинка слизової	Підслизовий шар
Інтактний контроль	0	0	0	0	0,5	0	0
Риніт без лікування	2,66	3	3	2,5	3	3	3
Риніт + гель «Імбирол»	1	1,83	1,5	0,66	0,5	1,5	1
Риніт + мазь «Піносол»	1	2,5	1,66	1,16	0,5	1,66	1

Як видно з даних табл. 8.2, при проведенні напівкількісної оцінки виразності морфологічних ознак патологічного процесу у слизовій оболонці носу щурів при травмуванні їдким натрієм достовірно встановлено, що до кінця експерименту у тварин з контрольною патологією такі морфологічні ознаки, як некроз слизової оболонки, деструкція епітелію, запальна реакція у власній пластинці слизової оболонки та підслизовому шарі, підвищення функціональної активності келихоподібних клітин та епітеліальних клітин слизово-серозних залоз підслизового шару, залишалися вираженими. Застосування засобів, що мають антиоксидантні властивості, з лікувальною метою достовірно зменшувало ступінь виразності всіх морфологічних ознак перебігу запально-деструктивного процесу до 14-ї доби дослідження майже до показників інтактної групи. За позитивним впливом на стан слизової оболонки носу гель «Імбирол» був на рівні з маззю «Піносол».

Отже, отримані клінічні дані свідчать, що відтворення риніту шляхом експериментального моделювання хімічного ураження слизової оболонки носа у щурів призводить до виникнення не тільки у слизовій оболонці дихальної порожнини носу низки патологічних змін, але і загальних клінічних ознак запального процесу в організмі. Наведені ознаки в певній мірі відповідають клініко-морфологічній картині гострого інфекційного риніту людини [75].

Гель «Імбирол» та мазь «Піносол», на моделі гострого запалення носової порожнини у щурів, викликаного їдким натрієм, проявляють виражену протизапальну активність, яка проявляється як місцевим впливом на уражену слизову оболонку, так і резорбтивним – на загальнотрофічні процеси в організмі експериментальних тварин.

Висновок до розділу 8

Доведено, що хімічне ураження слизової оболонки носа у щурів призводить до виникнення не тільки змін у слизовій оболонці дихальної порожнини носа (гіперемії і набряку м'яких тканин носа, появи слизистих та слизисто-гнійних виділень), а й у загальних клінічних ознаках запального процесу (зменшення маси

тіла до 3-ї доби та достовірне підвищення температури тіла). Застосування засобів з антиоксидантною дією – гелю «Імбирол» і мазі «Піносол» – обумовлювало виражену протизапальну активність, яка проявляється як місцевим впливом на уражену слизову оболонку, так і загальним – на загальнотрофічні процеси в організмі експериментальних тварин.

Список праць:

1. Крижна С.І., Київська Ю.О., Козар В.В., Багмут І.Ю. Дослідження впливу гелю «Імбирол» на морфологічний стан слизової носу щурів при моделюванні травматичного риніту. Актуальні проблеми транспортної медицини. – 2017. – №2(48). – С.66-70.

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Поширеність ГРЗ, що посідають перше місце серед причин тимчасової втрати працездатності, згідно з даними ВООЗ, тенденція до зростання чисельності захворюваності населення на території України, розвиток серйозних ускладнень на їх тлі, їх погана контрольованість та доведена недостатність на ринку ефективних місцевих лікарських засобів для лікування ринітів, створили підґрунтя для подальшого дослідження патофізіологічних аспектів риніту та їх фармакотерапевтичної корекції. Риніт – це хвороба, що характеризується запаленням слизової оболонки носа, разом з пароксизмами чхання, сверблячками очей, носу, ринореєю та обструкцією носа [22]. Чисельні запальні клітини виділяють цитокіни, що, у свою чергу, ініціює вивільнення медіаторів, таких як гістамін та лейкотрієни, які обумовлюють розширення артеріол, підвищують судинну проникність, посилюють слизову секрецію, викликають скорочення гладкої мускулатури, свербіж, ринорею [1, 42]. Перебіг такого запалення відбувається на тлі пошкодження біологічних мембран, порушення клітинного метаболізму та низки кооперативної взаємодії модуляторів як запалення, так і окисного стресу. Деякі патогенетичні механізми запалення та окисного стресу добре описані у літературі [63, 85, 108].

Проаналізувавши сучасні уявлення про етіологічні та патогенетичні особливості риніту, ми виділили певні зв'язки між запальною реакцією тканини, виникненням окисного стресу та станом імунологічної резистентності, як специфічної, так і вродженої, у відповідь на хімічні чи біологічні чинники. Встановлено, на підставі літературних джерел, що поряд зі змінами імунної відповіді на пошкодження слизової оболонки носових шляхів у тканині відбуваються комплексні зміни на клітинному, тканинному рівнях та організму в цілому: запалення та окисний стрес [118]. Доведено їх взаємозалежність як одних з основних патофізіологічних процесів [134]. Проте в цій проблемі залишається поки багато білих плям і спірних питань. Так, встановлено, що окислювальний стрес призводить до дисбалансу прооксидантних чинників та антиоксидантної

системи захисту, який, як вважають, сприяє оксидативному ушкодженню, що залучене до патогенезу риніту [57]. Проте дослідження, що проведені дотепер, описують зміни тільки декількох параметрів. Роль окислювального стресу при різних видах ринітів недостатньо вивчена, але, ймовірно, буде схожа на таку при бронхітах [42, 43]. Оскільки декілька окислювачів та антиоксидантів приймають участь у патогенезі запального процесу при експериментальних ринітах, комплексне дослідження декількох параметрів окислювального стресу та антиоксидантного захисту необхідне для визначення ролі окисно-антиоксидантного дисбалансу при хімічному та бактеріальному ринітах. Тому логічно було дослідити певні патофізіологічні механізми їх перебігу та обґрунтувати застосування у якості коректорів лікарські засоби з антиоксидантною дією природного походження.

У роботі розглянуті питання щодо порушення антиоксидантної системи внаслідок пошкодження тканини та вплив на її активність антиоксидантних речовин на основі природних сполук. Наголошено, що антиоксиданти на основі натуральних речовин є одним із найцінніших терапевтичних засобів для зниження виразності хвороб, спричинених оксидативним стресом [116].

На роль природних сполук, що відповідають вищенаведеним вимогам, запропонована низка ефірних олій з доведеною фармакологічною активністю. При цьому вони забезпечують лікувальний ефект завдяки здатності зволожувати слизову оболонку, антисептичній, антибактеріальній, імуномодуючій, антиоксидантній, седативній, релаксуючій, відхаркувальній, спазмолітичній діям. Окрім того, вони відносяться до класу практично нетоксичних речовин, тому безпечні для широкого споживача [131, 169, 172].

До певних переваг використання ефірних олій належить їх здатність не тільки легко проникати крізь шкіру, а і посилювати проникнення інших активних фармакологічних молекул в глибокі шари шкіри при їх місцевому застосуванні. Такі механізми дії реалізуються завдяки здатності ефірних олій більш рівномірно розподіляти лікарські засоби на поверхні шкіри, взаємодіяти з міжклітинними білковими структурами, що викликає їх конфірмаційну зміну, та глибоко

проникати між корнеоцитами рогового шару епідермісу. При цьому особливістю їх дії є той факт, що компоненти ефірних олій не тільки швидко проникають, але і швидко метаболізуються та виводяться, тому можуть бути використані як безпечні підсилювачі проникності [86, 90, 91, 116, 166]. Враховуючи цілу низку таких особливостей, було обрано у якості лікарських засобів з антиоксидантною активністю гель «Імбирол» та мазь «Піносол» [23].

Гель «Імбирол» було розроблено у НФаУ під керівництвом професора Баранової І.І. Він містить комплекс ефірних олій (імбиру, шавлії мускатної, майорану та чайного дерева) з антиоксидантними властивостями для лікування ринітів. Попередніми дослідженнями встановлено антибактеріальну та фунгіцидну активності по відношенню до *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*, дріжджоподібного грибу роду *Candida*; проведено визначення токсикологічних характеристик нового гелю при внутрішньошлунковому введенні та на шкірному нанесенні (гель «Імбирол» при пероральному введенні щурам відноситься до класу практично нетоксичних речовин ($5001 < LD_{50} < 15000$ мг/кг), згідно з класифікацією токсичності речовин Сидорова К. К. [67]); з видів біологічної активності встановлено відсутність у гелю «Імбирол» місцевоподразнювальної дії: еритематозних змін, набряку, ознак некрозу; а також встановлено протизапальну активність за рахунок здатності запобігати утворенню лейкотрієнів – продуктів ліпооксигеназного перетворення арахідонової кислоти. Отже, гель «Імбирол» здатен попереджувати утворення лейкотрієнів та практично не впливає на перебіг циклооксигеназного шляху утворення медіаторів запалення.

Загальновідомо, що особливості перебігу запального процесу обумовлюють розвиток окисного стресу тканини. Спочатку ми послідовно продемонстрували такі механізми взаємозв'язку запалення та окисного стресу. Наступним етапом дослідження стало з'ясування ролі місцевих антиоксидантів, які мали встановлену протизапальну активність, а, отже, мали здатність впливати і на перебіг запалення, і на стан порушеного прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу.

Теоретичним підґрунтям визначення параметрів ПОЛ та АОЗ стали факти щодо перебігу реакції тканини на пошкодження. Запуск ланцюгових реакцій відбувається на клітинному, тканинному рівнях та організму в цілому. Саме пошкодження тканини (клітинний, тканинний рівні) сприймається рецепторами розпізнавання: Toll-подібні рецептори (TLR), NOD-подібні рецептори (NLR) і рецептор для просунутих кінцевих продуктів глікації (RAGE). Усі ці рецептори активують фактори транскрипції – ядерний фактор-кВ (NF-кВ), що викликає експресію прозапальних генів, чим забезпечують антимикробну функцію та стимулюють додаткові імунні клітини. Проте їх активація включає і окислювальний стрес або внутрішньоклітинний редокс-статус з незбалансованою прозапальною та протизапальною цитокиновою продукцією [89].

Запальний каскад запрограмований і стереотипний, і це єдиний виявлений механізм відновлення тканин після травми. Поряд із розблокуванням прозапальних генів на клітинному рівні відбувається не тільки каскадне формування реактивних молекул, але і стимуляція клітин імунної відповіді на пошкодження та інфільтрація запальними клітинами, такими як нейтрофіли, моноцити та лімфоцити, місця стимуляції. Такі запальні клітини генерують більш розчинні медіатори запалення, такі як цитокіни, похідні арахідонової кислоти та хемокіни, які діють через активні запальні клітини в зоні інфікування та вивільнення більш реактивних видів. Так, вони вивільняють низку ферментів (нейтральні протеази, еластази, колагенази, кислі гідролази, фосфатази, ліпази тощо), реактивні види кисню (супероксид, перекис водню, гідроксильні радикали, гіпохлорова кислота тощо), хімічні медіатори (ейкозаноїди, компоненти комплементу, цитокіни (TNF- α , IL-1 β та IL-6), хемокіни (молекула хемокіну СМ-ліганд 2 і молекула хемокіну-мотива ліганду 8), PGE₂, оксид азоту тощо) і, таким чином, індукують нове пошкодження тканини та новий каскад окислювальних реакцій [118], що характеризує реакцію організму вже в цілому. Сформоване запально-окисне середовище створює нездорове коло, яке може спричинити порушення функцій здорових стромальних клітин та сусідніх епітеліальних клітин [61].

При цьому ефективна гостра запальна реакція призводить до видалення інфекційних факторів та репарації в подальшому. Відбувається зміна ліпідних маркерів від прозапальних простагландинів до ліпоксинів, які мають протизапальні ефекти. Ліпоксини знижують роль нейтрофілів і активізують роль моноцитів. Запальний і оксидативний процеси є компонентом будь-якої патології, включаючи риніти, бо вони виникають при пошкодженні тканин і є факторами як руйнування, так і захисту і загоєння [71].

Отже, за даними літератури, ми виділили певні патогенетичні взаємопов'язані процеси утворення надлишкової кількості прооксидантів, які, у свою чергу, не тільки погіршують перебіг окисного стресу, але і запалення. Сучасні наукові дослідження довели участь активованих кисневих метаболітів в етіології та патогенезі понад 200 захворювань і патологічних станів, у тому числі і ринітів. В їх основі лежить єдиний механізм – порушення балансу між утворенням вільних кисневих радикалів і їх пригніченням антиоксидантами, тобто «окислювальний стрес». Особливостям функціонування, вивченню механізмів АОЗ присвячена велика кількість сучасних досліджень. З позицій механізму дії в АОЗ можна виділити специфічні і неспецифічні компоненти. Специфічна АОЗ безпосередньо знижує рівень оксидантів в тканинах за допомогою обриву ланцюгів вільно-радикальних реакцій [127]. Розрізняють ферментативну і неферментативну АОЗ. До ферментативних компонентів відносять СОД, каталазу, глутатіонпероксидазу, глутатіонредуктазу та інші. До неферментативних – вітаміни (Е, К, С), церулоплазмін, білки плазми, трансферин, сечову кислоту. Дія неспецифічної АОЗ обумовлена зниженням можливості додаткової продукції вільних радикалів, наприклад редукцією пулу металів змінної валентності, що беруть участь в вільнорадикальних процесах [188].

При патологічних станах, що розвиваються на тлі окисного стресу, зміни АОЗ можуть бути обумовлені безпосередньою інактивацією за рахунок окисної деструкції або за рахунок окисного порушення регуляції активності факторів транскрипції, що кодують синтез ферментів [133].

У даний час ми наблизилися до нового рівня розуміння взаємозв'язку між розвитком запаленням і оксидативного стресу, як проявами вродженої і адаптивної імунної відповіді. Принципова новизна цього розуміння полягає у встановленні закономірного нерозривного зв'язку важкості перебігу риніту з активацією запалення і вільнорадикальних процесів. Багато в чому залишається також неясним, які дії можуть визначити їх попередження або усунення.

Вочевидь, застосування засобів, що мають специфічний вплив як на запалення, так і на окисний стрес або одночасне використання як антиоксидантних, так і протизапальних агентів можуть бути поліпшувати перебіг пошкодження тканини та її репарацію. Так, наприклад, встановлено, що перекис водню (H_2O_2) активує NF- κ B, а антиоксиданти блокують його [16, 145].

Встановлення здатності відновлювати порушений прооксидантно-антиоксидантний статус у нового гелю «Імбирол» дозволить поєднати саме такі патофізіологічні ланцюги перебігу запального процесу носової порожнини та скоригувати їх.

Задля такої мети нами використана модельна патологія – створення травматичного та бактеріального ринітів. Ми провели дослідження щодо встановлення спочатку окисного стресу та впливу місцевих антиоксидантів на його перебіг, що дозволить зробити висновок щодо раціональності застосування таких засобів.

Відтворенням модельного порушеного прооксидантно-антиоксидантного стану, що викликався нанесенням їдкою натрію у кожну ніздрю експериментальних тварин, ми достовірно довели розвиток оксидативного стресу у піддослідних тварин вже на 3-ю добу експерименту. Показники ДК і ТБК-продуктів у інтраназальних змивах підвищилися на 3-ю добу відтворення експерименту на 164,4% ($p < 0,05$) та 268,08% ($p < 0,05$) відповідно. Показники продуктів окислення ліпідів у сироватці крові були збільшені на 174,1% ($p < 0,05$) (ДК) та 231,5% ($p < 0,05$) (ТБК) у порівнянні з інтактними тваринами, що свідчить про розвиток виражених процесів пошкодження тканини експериментальним шляхом. Визначення показників ПОЛ у тварин з ринітом дозволило виявити

навіть на 14-у добу підвищення у інтраназальних змивах ТБК-продуктів на 251% ($p < 0,05$), ДК на 150,3% ($p < 0,05$); у сироватці крові рівень ТБК-продуктів підвищений на 216,1% ($p < 0,05$), ДК на 168,3% ($p < 0,05$) у порівнянні з інтактною групою. Такі дані доводять, що у тварин з експериментальним хімічним ринітом достовірно до кінця терміну спостереження відбувалася активація ПОЛ; зсуви прооксидантної системи також були вираженими до кінця терміну спостереження без тенденції до компенсації.

Загальновідомо, що дисбаланс між прооксидантним стресом та антиоксидантним захистом, який умовно визначається як оксидативний стрес, відбувається за принципом підвищення перших за рахунок зниження інших. Тобто, вищенаведені зміни підвищення маркерів пошкодження тканин – ПОЛ – мали викликати зміни стану АОЗ.

Система АОЗ працює в організмі саме на протипагу процесам пошкодження та утворення продуктів окиснення завдяки ферментативній та неензиматичній нейтралізації, видалення реактивних видів або розриву ланцюгових реакцій [37] утворених перикисей. Крім того, трансферин, церулоплазмін та альбумін також відіграють роль антиоксидантів, поєднавши іони перехідних металів, наприклад, залізо та мідь, оскільки іони металів швидко реагують з H_2O_2 , щоб отримати високотоксичний гідроксильний радикал ($OH \bullet$) за реакцією Фентона [24]. У своїй роботі маркерами стану АОЗ серед ферментативних антиоксидантів, таких як супероксиддисмутаза (СОД), каталаза та глутатіонпероксидаза, нами обрано каталазу, а серед неензиматичних антиоксидантів, таких як вітаміни С і Е, глутатіон (редукована форма, GSH) – відновлений глутатіон. Відомо, що каталаза (Кат) деструктує перекиси в ліпідні гідропероксида; глутатіонпероксидаза редукує ліпідні гідропероксида за рахунок окиснення глутатіону; глутатіонредуктаза відновлює глутатіон шляхом окиснення НАДФН, останній відновлюється через цитохромний ланцюг і систему природних антиоксидантів. Визначення динаміки перебігу таких параметрів дозволить з різних сторін проаналізувати механізми компенсації порушеного прооксидного дисбалансу.

За результатами проведених досліджень, достовірно встановлено, що поряд з підвищенням параметрів ПОЛ, відбувалося одночасне зниження системи АОЗ як на місцевому, так і системному рівнях. Про це свідчить зменшення активності Кат при експериментальному хімічному риніті на 3-ю добу у інтраназальних змивах у порівнянні з інтактною групою на 33,2% ($p < 0,05$), відновленого глутатіону (ВГ) – на 30,72% ($p < 0,05$). У сироватці крові на 3-ю добу спостерігали таке зниження показників АОЗ: Кат на 53,8% ($p < 0,05$), ВГ – на 39% ($p < 0,05$). Такі дані свідчать про достовірне зниження активності антиоксидантної системи на початку експерименту внаслідок експериментального пошкодження тканини.

Тривалість дослідження експериментальної модельної патології становила 2 тижні, що відповідає природному розвитку пошкодження та репарації тканини слизової оболонки носу. У групі з ринітом внаслідок хімічного пошкодження слизової оболонки, за отриманими результатами, спостерігається порушення проокисно-антиоксидантного балансу навіть до 14-ї доби експерименту. Так, активність Кат у інтраназальних змивах та сироватці крові була знижена на 23,4% ($p < 0,05$) та 34,8% ($p < 0,05$) відповідно. Рівень ВГ залишався достовірно нижчим показникам інтактної групи у інтраназальних змивах та у сироватці крові – на 26,2% ($p < 0,05$) та 34,5% ($p < 0,05$) відповідно. Стан АОЗ до 14-ї доби експерименту характеризувався як декомпенсований у групи з ринітом. Такі зсуви АОЗ залишалися стабільно зниженими на тлі некомпенсованих показників ПОЛ і наприкінці терміну спостереження та не мали тенденції до компенсації.

Наступною модельною патологією виступило бактеріальне пошкодження слизової оболонки носу шляхом інфікування добовою культурою музейного штаму *Staphylococcus aureus*. Дослідження показників ПОЛ та АОЗ в динаміці було завданням на даному етапі експериментального дослідження. Достовірно встановлено розвиток оксидативного стресу у тварин внаслідок бактеріального пошкодження, вже починаючи з 3-ї доби експерименту, на місцевому і системному рівнях. Так, рівень ДК та ТБК-продуктів у інтраназальних змивах підвищився на 162,9% ($p < 0,05$) та 267,4% ($p < 0,05$) відповідно. Показники

продуктів окислення ліпідів у сироватці крові були збільшені на 167,5% ($p < 0,05$) (ДК) та 246,3% ($p < 0,05$) (ТБК).

Отримані результати дозволили встановити, що навіть наприкінці періоду експериментального дослідження показники прооксидантної системи у тварин з ринітом були стабільно високими та не повернулися до параметрів норми. Так, рівень ДК та ТБК-продуктів у інтраназальних змивах становив 140,5% ($p < 0,05$) та 247,0% ($p < 0,05$) від інтактного контролю. Подібна ситуація була і у сироватці крові: ДК – 159,6% ($p < 0,05$); ТБК-продукти – 216,1% ($p < 0,05$). Такі дані свідчать про недостатність механізмів компенсації. За показниками ТБК-продуктів та ДК, як на місцевому, так і системному рівнях, зсуви прооксидантної системи були вираженими до кінця терміну спостереження без тенденції до компенсації.

Паралельно констатували зниження активності системи АОЗ: зменшення активності Кат на 3-ю добу у інтраназальних змивах у групі з ринітом у порівнянні з інтактною групою на 16,6% ($p < 0,05$), відновленого глутатіону (ВГ) – на 32,08% ($p < 0,05$); у сироватці крові на 3-ю добу зниження активності Кат на 53,05% ($p < 0,05$), ВГ – на 40,51% ($p < 0,05$). Такі дані свідчать про достовірне зниження активності антиоксидантної системи на початку експерименту внаслідок стресу від пошкодження.

Слід зазначити, що низький рівень показників АОЗ залишався до 14-ї доби експерименту, за виключенням каталази. Так, активність Кат у інтраназальних змивах підвищилася на 14-у добу на 126,7% ($p < 0,05$) по відношенню до інтактного контролю, тоді як у сироватці крові вона залишалася на некомпенсованому рівні і недостатність її становила 45,8% ($p < 0,05$). Рівень ВГ залишався достовірно нижчим показникам інтактної групи у інтраназальних змивах та у сироватці крові – на 26,2% ($p < 0,05$) та 33,98% ($p < 0,05$) відповідно. Це свідчить про неможливість власної АОЗ експериментальних тварин компенсувати порушення прооксидантно-антиоксидантного стану.

Отримані результати проведеного етапу дослідження свідчать про те, що в патогенезі ринітів суттєве значення мають порушення в системі ПОЛ/АОЗ. Такі порушення проявляються в збільшенні в крові рівня продуктів ПОЛ, як

первинних, так і вторинних. Підвищений рівень ПОЛ спостерігався як на початку експерименту при обох видах риніту, так і наприкінці (через 2 тижні). На тлі порушення прооксиданної системи достовірно встановлено декомпенсований стан АОЗ на 3-ю добу й наприкінці терміну спостереження при обох видах риніту. Установлено, що потужності власної АОЗ при моделюванні ринітів недостатньо для компенсації вираженого окисного стресу.

З метою визначення найбільш ефективної патогенетичної терапії ринітів необхідні поглиблені дослідження тонких молекулярно-клітинних механізмів розвитку пошкодження тканин, у тому числі на підставі вивчення взаємозв'язку процесів ПОЛ та стану ендогенної АОЗ в залежності від виду запалення. Наступним етапом дослідження стало визначення ступеня порушення прооксидантно-антиоксидантного захисту на місцевому та системному рівнях на моделях різних видів ринітів за коефіцієнтом оксидативного стресу, як показником, що демонструє рівновагу показників ПОЛ та АОЗ (у нормі наближається до 1,0).

Результати показали, що у інтраназальних змивах при хімічному риніті спостерігається висока ступінь зсуву за коефіцієнтом окисного стресу – як на 3-ю, так і на 14-у добу. Коефіцієнт 9,52 ($p < 0,05$) свідчить про достовірне відтворення експериментальної патології та про серйозні порушення з боку системи ПОЛ та АОЗ. До 14-ї доби спостерігається певна позитивна динаміка коефіцієнтів оксидативного стресу, що свідчить про включення механізмів компенсації тканини слизової носа. Проте потужність таких систем не змогла компенсувати такі зсуви.

Більш серйозні наслідки порушення системи ПОЛ та АОЗ внаслідок хімічної травми тканини спостерігали в сироватці крові, зсуви в якій значно перевищували коефіцієнт оксидативного стресу в інтраназальних змивах. Проте констатували також подібну динаміку до зниження коефіцієнту, тобто включення компенсації ступеня порушення системи ПОЛ та АОЗ. Встановлено, що на системному рівні такі зсуви були більш вираженими у порівнянні з місцевими показниками – у 1,49 ($p < 0,05$) рази на 3-ю добу та у 1,27 ($p < 0,05$) рази на 14-у

добу експерименту. Такі дані доводять не тільки розвиток оксидативного стресу, але і демонструють декомпенсований стан системи ПОЛ та АОЗ навіть наприкінці експерименту (на 14-й день).

За показником коефіцієнту оксидативного стресу у інтраназальних змивах на моделі бактеріального риніту спостерігається високий ступінь його зсуву як на 3-ю добу, так і на 14-у добу. Коефіцієнт 7,7 ($p < 0,05$) свідчить про достовірне відтворення експериментальної патології та про серйозні порушення з боку системи ПОЛ та АОЗ. До 14-ї доби спостерігається певна позитивна динаміка коефіцієнтів оксидативного стресу до зниження, що свідчить про включення механізмів компенсації тканини слизової оболонки носа. Проте встановлено недостатню потужність таких систем.

Більш серйозні наслідки порушення системи ПОЛ та АОЗ внаслідок бактеріальної травми тканини також спостерігали в сироватці крові, зсуви в якій значно перевищували коефіцієнт оксидативного стресу в інтраназальних змивах. Проте і в цьому випадку констатували подібну динаміку до зниження коефіцієнту, тобто включення компенсації ступеня порушення системи ПОЛ та АОЗ. На системному рівні у порівнянні з місцевим рівнем такі зсуви були більш вираженими – у 2,0 ($p < 0,05$) рази на 3-ю добу та у 2,59 ($p < 0,05$) рази на 14-у добу експерименту. Такі дані доводять не тільки розвиток оксидативного стресу, але і демонструють декомпенсований стан системи ПОЛ та АОЗ навіть наприкінці експерименту (на 14-й день), внаслідок бактеріального риніту.

Таким чином, достовірно встановлено, за показником коефіцієнту оксидативного стресу, високий ступінь порушення системи ПОЛ та АОЗ на різних видах ринітів (хімічному та бактеріальному) на 3-ю добу на місцевому та системному рівнях розвитку патології. Доведено, що до кінця терміну спостереження потужність компенсаторних механізмів була недостатньою, що проявлялося високим коефіцієнтом оксидативного стресу на обох видах ринітів, на місцевому та системному рівнях. Ступінь порушення системи ПОЛ та АОЗ була більш вираженою при бактеріальному експериментальному риніті за показниками сироватки крові, тобто на системному рівні.

У цілому, отримані дані свідчать про важливу роль вільнорадикальних процесів у патогенезі ринітів різного походження.

Також вивчали імунний статус у щурів на тлі запального процесу слизової оболонки носа різної природи. На перебіг запальної реакції та швидкість вільнорадикальних реакцій впливають і фактори імунологічної відповіді як на місцевому, так і системному рівнях. Загальними точками пересікання цих процесів є інфільтрація запальними клітинами, такими як нейтрофіли, моноцити та лімфоцити, місця пошкодження або стимуляції. При цьому активовані запальні клітини вивільняють багато ферментів (нейтральні протеази, еластази, колагенази та інші), реактивні види кисню (супероксид, перекис водню, гідроксильні радикали) хімічні медіатори (ейкозаноїди, компоненти комплементу, цитокіни (TNF- α , IL-1 β , IL-6), хемокіни, PGE₂, оксид азоту і, таким чином, індукують пошкодження тканини, окислювальний стрес та реакцію з боку імунної системи [24]. На тлі цього процесу відбувається синтез антитіл, С-реактивного білку, амілоїдного білка сироватки та інших [145], які доповнюють участь імунної системи в процесі знешкодження подразнювального чинника. Логічно, що зміна ліпідних маркерів від прозапальних простагландинів до ліпоксинів, які мають протизапальні ефекти, знижують роль нейтрофілів і, в свою чергу, активізують моноцити, які усувають мертві клітини та обумовлюють ремоделювання тканини, її репарацію, що відбувається на тлі певних змін прооксидантно-антиоксидантного статусу.

Дослідження стану клітинного та гуморального імунітету проведені на модельній патології хімічного та бактеріального ринітів та за умов застосування місцевих антиоксидантів – гелю «Імбирол» та мазі «Піносол». NALT – nasal-associated lymphoid tissue – є індукційною ділянкою слизової оболонки верхніх дихальних шляхів, де імунну відповідь реалізують представники імунної системи – специфічної та неспецифічної її складової. Проте переважна більшість публікацій присвячена встановленню ролі специфічного імунітету місцевої несприйнятливості, тобто вмісту різних класів імуноглобулінів у секретах NALT. Що стосується дослідження стану неспецифічної резистентності в секретах

NALT у відповідь на хімічні чи біологічні чинники та за умов застосування лікарських препаратів місцевої дії з антиоксидантними властивостями, таких досліджень в літературі вкрай мало.

На моделі експериментального хімічного риніту ми встановили порушення стану імунологічного захисту слизової оболонки. Одним з перших з низки досліджених нами показників став рівень лізоциму (мурамідази), який є одним із найдавніших факторів неспецифічного захисту організму та приймає участь у процесах регуляції місцевого імунітету. На початку експерименту (3-я доба) встановлено його зниження на 32,8% ($p < 0,05$) у порівнянні з інтактними тваринами, що відповідає клінічній картині гострого запалення. При цьому повного відновлення секреції лізоциму у групі з ринітом без лікування не відбулося наприкінці експерименту: його недостатність на 14-у добу дослідження становила 22,7% ($p < 0,05$), що свідчило про недостатність імунологічних механізмів компенсації на фоні виражених процесів пошкодження тканини експериментальним шляхом.

Другим показником неспецифічної резистентності організму серед досліджених нами показників стала клітинна або фагоцитарна активність гранулоцитів. Завдяки здатності активованих гранулоцитів вивільняти велику кількість ферментів, метаболітів кисню та інших біологічно активних речовин, відбуваються процеси як елімінації пошкоджуючого чинника, так і підтримання оксидативного стресу, незавершеність запалення в слизовій оболонці по закінченню 14-денного експерименту. Фагоцитарна активність нейтрофілів та їх поглинаюча здатність були зниженими при моделюванні риніту, що свідчить про пригнічення функції фагоцитів. Так, ФІ та ФЧ в інтраназальних змивах у щурів із експериментальним хімічним ринітом знизилися на 3-ю добу після відтворення риніту на 9,1% ($p < 0,05$) та 14,6% ($p < 0,05$) відповідно у порівнянні з інтактними тваринами. На кінець експерименту спостерігали також пригнічений стан здатності нейтрофілів до фагоцитозу та їх поглинаючої активності: на 14-у добу показники ФІ мали ще більш виражену негативну динаміку, їх недостатність

становила вже 16,3% ($p < 0,05$). Недостатність показників ФЧ була стабільною впродовж усього експерименту та становила на 14-ю добу 13,6% ($p < 0,05$).

Результати дозволили встановити, що перебіг хімічного риніту на 3-ю добу супроводжується зниженням метаболічної активності нейтрофілів (НСТ-тест) на 64,9% ($p < 0,05$) у порівнянні з інтактними тваринами. Наприкінці спостереження (на 14-у добу) показники НСТ-тесту у групі ринітом без лікування перевищували норму на 45,5% ($p < 0,05$), що вказує на значну активацію нейтрофілів, яка може бути однією із причин оксидативного стресу, та незавершеність запалення в слизовій оболонці по закінченню експерименту.

Наступним фактором неспецифічного клітинного місцевого захисту як компоненту клітинного вродженого імунітету, що вивчався, були натуральні кілерні клітини (НК). Їх активність спричиняє вивільнення цитотоксичних білків перфоринів та продукцію цитокінів. Експериментальний хімічний риніт достовірно супроводжувався зниженням активності НК-клітин в інтраназальних змивах у щурів не тільки на 3-ю добу експерименту – на 23,6% ($p < 0,05$), але і на 14-у добу – на 19,6% ($p < 0,05$) у порівнянні з інтактними тваринами. Застосування лікувальних засобів – гелю «Імбирол» та мазі «Піносол» – дозволило достовірно покращити ці показники у інтраназальних змивах до рівня інтактних тварин.

До гуморальної ланки неспецифічної резистентності організму, що досліджували, належать гемолізینی та гетерофільні аглютиніни. Їх наявність, динаміка змін відбивають здатність імунної системи викликати аглютинацію та руйнування бактерій, нейтралізацію вірусів і токсинів, а також стимулювати фагоцитарні реакції (через опсонізацію збудників). Визначення антитіл – гемолізинів та гетерофільних аглютинінів – в сироватці крові щурів із експериментальним хімічним ринітом показало, що патологічний процес в носі супроводжувався зниженням рівня природних антитіл в сироватці крові у щурів на 3-ю добу відтворення риніту – на 20,9% ($p < 0,05$) та 27,2% ($p < 0,05$), відповідно, у порівнянні з інтактними тваринами. Подібна ситуація відзначалася у тварин без лікування і на 14-у добу – рівень ГЛ та ГА був знижений на 17,1% ($p < 0,05$) та 24,3% ($p < 0,05$) відповідно.

Результати визначення рівня лізоциму у інтраназальних змивах на моделі бактеріального риніту дозволили встановити зниження секреції лізоциму у порівнянні з інтактними тваринами як на 3-ю добу – на 37,8% ($p < 0,05$), так і на 14-у добу – на 28,3% ($p < 0,05$), що обумовлено стресом, в основі якого лежить відомий імуносупресивний ефект кортикостероїдів, та/або недостатнім відновленням місцевих бактерицидних факторів слизової оболонки носу в результаті запально-деструктивних процесів при моделюванні ринітів.

За показниками ФІ та ФЧ, перебіг бактеріального експериментального риніту супроводжувався їх супресією. Так, на 3-ю добу ФІ та ФЧ у цих тварин були зниженими на 27,9% ($p < 0,05$) та 13,2% ($p < 0,05$) відповідно. Така картина спостерігалася і на 14-у добу експерименту – на 24,2% ($p < 0,05$) та 31,8% ($p < 0,05$) відповідно. Оскільки однією із основних функцій нейтрофілів є здійснення фагоцитозу – процесу, який призводить до перетравлювання частинок і складається з етапів адсорбції, поглинання і деградації, то порушення фагоцитарної здатності нейтрофілів будуть спричинювати персистенцію патогену в організмі та подальший розвиток патологічного процесу.

Результати дослідження фагоцитарної активності гранулоцитів, що характеризують активність системи гуморально-клітинної кооперації, показали активацію метаболічної активності нейтрофілів (НСТ-тест) як на 3-ю добу спостереження – підвищення на 17,6% ($p < 0,05$), так і на 14-у добу – підвищення аж на 72,3% ($p < 0,05$), тобто вказують на значну активацію нейтрофілів, яка може бути однією із причин оксидативного стресу, та незавершеність запалення в слизовій оболонці по закінченню експерименту.

Слід також зауважити, що бактеріальний риніт супроводжувався більш значною метаболічною активністю нейтрофілів, ніж хімічний, що свідчить про інтенсивніший запальний процес та, можливо, деструктивні процеси в результаті дихального вибуху нейтрофілів при даній формі риніту і посилення процесів ПОЛ.

Спостерігалось достовірне зниження активності натуральних кілерних клітин (NK), яка до 14-ї доби була зниженою на 67,93% ($p < 0,05$).

Визначення рівня антитіл – гемолізинів та гетерофільних аглютининів – в сироватці крові щурів із експериментальним бактеріальним ринітом дозволило встановити депресією вивчених показників. На 3-ю добу рівень ГЛ та ГА в сироватці крові щурів із експериментальним бактеріальним ринітом був зниженим на 24,8% ($p < 0,05$) та 21,3% ($p < 0,05$) відповідно, на 14-у добу спостерігали ще більш виражене пригнічення, що становило 21% ($p < 0,05$) та 35,5% ($p < 0,05$). Такий стан характеризує недостатність гуморальної ланки імунітету за умов бактеріального пошкодження.

Установлено, що в патогенезі експериментального гострого хімічного та бактеріального ринітів у щурів суттєве значення мають порушення стану неспецифічної ланки імунної відповіді як на місцевому так і системному рівнях. Ступінь дисбалансу в імунній системі була вищою при моделюванні бактеріального риніту, що характеризувався більш значно вираженою метаболічною активністю нейтрофілів наприкінці експерименту за рахунок «метаболічного вибуху» – у 1,2 раза ($p < 0,05$) порівняно з хімічним ринітом, більш вираженим пригніченням інших досліджуваних показників неспецифічної імунної відповіді. Такий перебіг бактеріального риніту у порівнянні з хімічним свідчить про інтенсивніший запальний процес та, можливо, деструктивні процеси в результаті дихального вибуху нейтрофілів при даній формі риніту і посилення процесів ПОЛ протягом спостереження. Зміни параметрів спостерігаються при відтворенні експериментальних ринітів на 3-ю добу та 14-у добу. Встановлено, що гіперметаболічна активність нейтрофілів на моделях експериментальних ринітів приводила, з одного боку, до виділення вільних форм кисню та розвитку оксидативного стресу, а з іншого, – викликала пригнічення показників лізоциму, ФІ, ФЧ, НК, ГЛ, ГА, та приводило до незавершеності запалення в слизовій оболонці та неспроможності самостійного відновлення активності імунної системи.

Згідно з дизайном дослідження було проведено визначення морфологічних ознак пошкодження тканин носової порожнини та їх відповідності тяжкості клінічного перебігу, біохімічним, клініко-лабораторним зсувам на

експериментальних моделях хімічного та бактеріального ринітів. Це дозволяє оцінити за гістологічними критеріями тяжкість перебігу запально-деструктивних процесів стосовно ступеня оксидативного стресу та реакції з боку імунної системи; визначити фармакотерапевтичну ефективність антиоксидантної терапії.

На першій модельній патології мікроскопічний аналіз показав, що відтворення хімічного риніту призводить до некомпенсованих вогнищевих некротично-деструктивних змін у різних відділах слизової оболонки дихальної порожнини носу, проліферативної запальної реакції у власній пластинці, гіперсекреції епітеліальних клітин слизово-серозних залоз підслизового шару. Наведена мікроскопічна картина близька до такої при травматичному риніті людини. Перебіг регенеративних процесів відбувався на тлі спотвореної регенерації: новоутворений епітелій у місцях пошкодження на 14-й день дослідження трансформувалася у багат шаровий плоский. Ці зміни корелюють з перебігом описаних змін ПОЛ та АОЗ, стану імунологічного захисту.

Наступне дослідження проведено на моделі бактеріального риніту. Отримані морфологічні дані свідчать, що введення щуркам у носові ходи добової культури музейного штаму *Staphylococcus aureus* призводить до виникнення у слизовій оболонці дихальної порожнини носу типових патологічних змін – вогнищевої деструкції епітелію, гіперплазії та гіперсекреції келихоподібних клітин, виразної запальної реакції у власній пластинці слизової оболонки та у підслизовому шарі, повнокровності судин різного калібру, гіперпродукції слизу залозами підслизового шару. Ці зміни корелюють з перебігом описаних змін ПОЛ та АОЗ, стану імунологічного захисту при бактеріальному риніті.

Наведені ознаки експериментальних ринітів у певній мірі відповідають морфологічній картині гострого інфекційного риніту людини.

Встановлення гістологічних ознак перебігу експериментальних моделей риніту дозволило провести наступний етап дослідження – щодо відповідних клінічних ознак виражених запально деструктивних процесів слизової оболонки носа. Лікувальну ефективність препаратів оцінювали за зміною клінічної картини

ураження (інтенсивність носової секреції), загальним станом тварин, масо- і термометрією.

Так, на 3-ю добу експерименту встановлені гіперемія і набряк м'яких тканин носа, поява спочатку слизистих, потім слизисто-гнійних виділень з носа, через що зовнішній вигляд щурів був неохайний, шерсть біля мордочки була мокрою і брудною. Інтенсивність носової секреції була оцінена у 3 бали.

Запальний процес в носовій порожнині супроводжувався зниженням загальнотрофічних процесів, про що свідчить падіння маси тіла у тварин з патологією (3-я доба експерименту) та достовірне підвищення температури тіла відносно вихідних даних на цьому етапі дослідження.

При проведенні напівкількісної оцінки виразності морфологічних ознак патологічного процесу у слизовій оболонці носу щурів при травмуванні їдким натрієм достовірно встановлено, що до кінця експерименту у тварин з контрольною патологією такі морфологічні ознаки, як некроз слизової оболонки, деструкція епітелію, запальна реакція у власній пластинці слизової оболонки та підслизовому шарі, підвищення функціональної активності келихоподібних клітин та епітеліальних клітин слизово-серозних залоз підслизового шару, залишалися вираженими. Отже, отримані клінічні дані свідчать, що відтворення риніту шляхом експериментального моделювання хімічного ураження слизової оболонки носа у щурів призводить до виникнення не тільки у слизовій оболонці дихальної порожнини носу низки патологічних змін, але і загальних клінічних ознак запального процесу в організмі. Наведені ознаки в певній мірі відповідають клініко-морфологічній картині гострого інфекційного риніту людини [75].

Наступною ціллю нашого дослідження стало встановлення терапевтичного ефекту лікувальних засобів з метою їх корегуючого впливу. Теоретично ми обґрунтували, що порушення ПОЛ та АОЗ відбувається на тлі запальної реакції, супроводжує її до повного відновлення тканини. Проте цей процес має затяжний характер, а, отже, видужання не настає навіть на 14-у добу такого процесу. Утворення реактивних сполук має бути нейтралізовано, і, як наслідок, репаративні процеси мають бути прискорені. Експериментальним шляхом у

нашій роботі ми намагалися з'ясувати вплив двох лікувальних засобів з антиоксидантними властивостями: гелю «Імбирол» та мазі «Піносол» при місцевому нанесенні.

До складу мазі «Піносол» входять олії соснова та евкالیптова, ментол, тимол та токоферолу ацетат. Біологічний оксидант токоферол взаємодіє з продуктами або каталізаторами вільнорадикального окислення, такими як гідроперекиси та активні радикали, і блокує каталізатори вільнорадикального окислення – іони металів змінної валентності. Високий вміст олій різного походження обумовлює зволожуючу та антисептичну дії, що дозволяє пригнічувати бактерії і віруси, імуномоделюючу, антиоксидантну та інші види дій. Вибір наступного природного антиоксиданта – гелю «Імбирол» – обумовлений низкою факторів, а саме створенням вітчизняної лікарської м'якої форми з лікувальними протизапальними, антиоксидантними та антимікробними властивостями та пролонгованою ефективністю, що доведено попередніми комплексними фармакологічними дослідженнями [23].

Згідно з дизайном роботи, спочатку були проведені дослідження прооксидантно-антиоксидантного стану слизової оболонки носових ходів на першій моделі – хімічного риніту – за умов застосування двох місцевих засобів із антиоксидантними властивостями.

Отримані результати застосування лікувальних засобів свідчать про достовірне покращення показників ПОЛ як у інтраназальних змивах, так і у сироватці крові. Так, на 14-у добу експерименту у інтраназальних змивах при застосуванні гелю «Імбирол» показники ДК знизилися майже до рівня інтактних тварин – становили 112,5% ($p < 0,05$), ТБК-продукти – 111% ($p < 0,05$) і достовірно не відрізнялися від показників інтактної групи. У сироватці крові при застосуванні гелю «Імбирол» рівень ДК знизився до 126,9%, ТБК-продуктів – до 113,0% ($p < 0,05$) від інтактного контролю.

Застосування лікувального засобу «Піносол» викликало подібну тенденцію. Так, у інтраназальних змивах рівень ДК та ТБК-продуктів знизився під

його впливом до 126,3% ($p < 0,05$) та 137,2% ($p < 0,05$); у сироватці крові – до 152,8% ($p < 0,05$) та 132,9% ($p < 0,05$), відповідно, від таких у інтактних тварин.

Як видно з отриманих результатів, застосування лікувальних засобів з антиоксидантними властивостями дозволило достовірно зменшити показники ПОЛ майже до параметрів норми. При порівнянні активності двох препаратів слід зазначити, що фармакологічна активність гелю «Імбирол» була дещо вищою за таку у мазі «Піносол». Так, на 14-у добу у порівнянні з ринітом без лікування у інтраназальних змивах рівень ДК та ТБК-продуктів знизився під впливом гелю «Імбирол» на 25,2% ($p < 0,05$) та 55,7% ($p < 0,05$), тоді як під впливом мазі «Піносол» – на 15,9% ($p < 0,05$) та 45,3% ($p < 0,05$) відповідно. У сироватці крові застосування гелю «Імбирол» дозволило знизити у порівнянні з ринітом без лікування рівні ДК та ТБК-продуктів на 24,6% ($p < 0,05$) та 47,7% ($p < 0,05$), тоді як при застосуванні мазі «Піносол» такі ж показники знижувалися на 9,1% ($p < 0,05$) та 38,7% ($p < 0,05$).

Вплив нового гелю «Імбирол» та мазі «Піносол» на активність порушеного антиоксидантного захисного стану тканин слизової оболонки носових шляхів полягав у значному поліпшенні досліджуваних параметрів на 14-у добу експерименту. Так, показники Кат та ВГ достовірно підвищилися у обох групах, у яких проводили лікування, у порівнянні з ринітом без лікування ($p < 0,05$) та наближались до норми. Так, на 14-у добу активність Кат у інтраназальних змивах недостовірно відрізнялася від норми – на 5,7% ($p < 0,05$) у гелю «Імбирол» та на 13,6% ($p < 0,05$) у мазі «Піносол». Активність Кат у сироватці крові при застосуванні гелю «Імбирол» підвищилася до нормальних показників – перевищувала їх всього на 2,5% ($p < 0,05$), а при застосуванні мазі «Піносол» була недостовірно меншою – на 15,3% ($p < 0,05$) – від показників інтактною групи. Така позитивна динаміка спостерігалася і на показниках ВГ. У групі з ринітом без лікування теж відбулося практично повне відновлення маркерів системи АОЗ. Рівень ВГ недостовірно відрізнявся від інтактного контролю – на 26,2% ($p < 0,05$) у інтраназальних змивах, та 34,5% у сироватці крові. Лікувальні властивості гелю «Імбирол» дозволили підвищити рівень ВГ не тільки до нормальних показників, а

і дещо перевищити їх - на 22,4% ($p < 0,05$) у інтраназальних змивах і 8,2% ($p < 0,05$) у сироватці крові. Лікувальні властивості мазі «Піносол» підвищили активність ВГ у інтраназальних змивах на 14-у добу на 12,7% ($p < 0,05$), а у сироватці крові рівень ВГ був дещо меншим по відношенню до інтактного контролю – на 13,7% ($p < 0,05$). Таким чином, експериментально доведено на модельній патології хімічного риніту моделюючий позитивний вплив лікувальних засобів з антиоксидантними та протизапальними властивостям – гелю «Імбирол» та мазі «Піносол». Подібний вплив реалізований завдяки здатності цих лікувальних засобів сприяти нормалізації показників прооксидантної активності та підвищенню параметрів антиоксидантного захисту.

Застосування лікувальних засобів за умов бактеріального пошкодження слизової оболонки носу дозволило значно поліпшити перебіг запального процесу, за показниками як у інтраназальних змивах, так і у сироватці крові. Так, показники ПОЛ на 14-у добу експерименту при застосуванні гелю «Імбирол» достовірно не відрізнялися від показників інтактної групи: у інтраназальних змивах рівень ДК становив 100,6% ($p < 0,05$), ТБК-продуктів – 92,05% ($p < 0,05$); у сироватці крові: ДК – 115,8% ($p < 0,05$) , ТБК-продуктів – 112,9% ($p < 0,05$) від норми. Такі результати достовірно свідчать про вплив гелю на активність компенсаторно-адаптаційних механізмів. Застосування мазі «Піносол» спричинювало подібну тенденцію. Так, у інтраназальних змивах рівні ДК та ТБК-продуктів достовірно не відрізнялися від норми – становили від неї 97,5% ($p < 0,05$) та 113,6% ($p < 0,05$) відповідно; у сироватці крові – 121,4% ($p < 0,05$) та 133,0% ($p < 0,05$) відповідно.

Застосування з лікувальною метою гелю «Імбирол» та мазі «Піносол», показало поліпшення показників АОЗ при бактеріальному запаленні на 14-у добу експерименту. Так, параметри Кат та ВГ достовірно підвищилися у обох групах, яким проводили лікування, у порівнянні з ринітом без лікування ($p < 0,05$) і наближалися до норми: активність Кат у інтраназальних змивах недостовірно відрізнялася від норми – на 9,39% ($p > 0,05$) у гелю «Імбирол» та на 1,6% ($p > 0,05$) у мазі «Піносол»; у сироватці крові недостовірно перевищувала нормальні

показник – на 5,7% ($p > 0,05$, а при застосуванні мазі «Піносол» була недостовірно меншою – на 6,8% ($p > 0,05$ – від показників інтактної групи. Така позитивна динаміка спостерігалася і на показниках ВГ: рівень ВГ недостовірно відрізнявся від такого у інтактних щурів – був на 30,2% ($p > 0,05$) вище у інтраназальних змивах та 16,9% ($p > 0,05$) у сироватці крові під впливом гелю «Імбирол»; на 30,1% ($p > 0,05$) і 10,4% ($p > 0,05$), відповідно, при застосуванні мазі «Піносол».

Таким чином, експериментально доведено на модельній патології бактеріального генезу – риніту – моделюючий позитивний вплив лікувальних засобів з антиоксидантними та протизапальними властивостям – гелю «Імбирол» та мазі «Піносол».

Це підтверджено динамікою коефіцієнту окисного стресу з 3-ї до 14-ї доби експерименту у інтраназальних змивах під впливом лікувальних засобів з антиоксидантними властивостями. Так, у групі з контрольною патологією хімічного риніту динаміка змін коефіцієнту становила від від 9,52 ($p < 0,05$) до 6,7 ($p < 0,05$). Коефіцієнти оксидативного стресу при застосуванні гелю «Імбирол» та мазі «Піносол» наближалися до 1,0 за умов довготривалого лікування. Так, коефіцієнт оксидативного стресу у інтраназальних змивах на 14-у добу при застосуванні гелю «Імбирол» становить 1,08 ($p < 0,05$), при застосуванні мазі «Піносол» – 1,41 ($p < 0,05$). Такі дані відбивають здатність досліджених засобів позитивно впливати на стан показників ПОЛ та АОЗ. Застосування місцевих антиоксидантів знижувало коефіцієнт оксидативного стресу в сироватці крові – до 1,29 ($p < 0,05$) при застосуванні гелю «Імбирол» та до 2,79 ($p < 0,05$) при застосуванні мазі «Піносол» проти коефіцієнту 8,52 ($p < 0,05$) у тварин з ринітом без лікування на 14-у добу спостереження.

Такі дані свідчать про здатність досліджених засобів позитивно впливати на перебіг хімічного риніту за рахунок посилення механізмів компенсації тканини слизової оболонки носа, а саме пригнічувати процеси вільнорадикального окиснення та підвищувати активність АОЗ. При цьому здатність нормалізувати показники ПОЛ та АОЗ гелю «Імбирол» була незначно більш вираженою у порівнянні з маззю «Піносол».

Місцеве застосування природних антиоксидантів – гелю «Імбирол» та мазі «Піносол» – при бактеріальному риніті приводило до практично повного відновлення балансу прооксидантно-антиоксидантної системи та наближення коефіцієнту оксидативного стресу до 1,0.

Застосування з лікувальною метою місцевих антиоксидантів – гелю «Імбирол» та мазі «Піносол» – дозволило суттєво знизити показники порушеного прооксидантно-антиоксидантного стану до показників інтактної групи. Застосування гелю «Імбирол» призвело до зниження коефіцієнту оксидативного стресу з 15,64 ($p < 0,05$) (на 3-я доба досліджу) до 1,055 ($p < 0,05$) та мазі «Піносол» до 1,94 ($p < 0,05$), замість 9,64 ($p < 0,05$) контрольної патології без лікування на 14-у добу. Такі результати доводять потужний вплив природних антиоксидантів при місцевому застосуванні на відновлення декомпенсованого прооксидантно-антиоксидантного балансу слизової оболонки носа в умовах експериментального бактеріального риніту.

Таким чином, достовірно встановлено, за показником коефіцієнту оксидативного стресу, потужний позитивний вплив засобів з антиоксидантними властивостями на процеси компенсації та відновлення прооксидантно-антиоксидантного балансу в умовах різних видів ринітів. Доведено, що лікувальні властивості гелю «Імбирол» та мазі «Піносол» з антиоксидантною активністю обумовлюють їх ефективність при різних видах ринітів (хімічному та бактеріальному) на місцевому та системному рівнях розвитку патології. За здатністю лікувального засобу знижувати коефіцієнт оксидативного стресу та сприяти відновленню балансу проокисних і антиокислювальних систем гелю «Імбирол» не поступався гелю «Піносол».

Також вивчали імунний статус у щурів на тлі запального процесу слизової оболонки носа різної природи під впливом антиоксидантних лікувальних засобів.

Застосування гелю «Імбирол» та мазі «Піносол» на моделі хімічного риніту до 14-ої доби приводило до достовірного зростання рівня лізоциму практично до значень інтактного контролю, що вказує на зменшення проявів запалення та відновлення функції слизової оболонки, зокрема, стосовно секреції лізоциму.

Застосування гелю «Імбирол» та мазі «Піносол» достовірно сприяло зменшенню проявів запалення і нормалізації функціональної та метаболічної активності фагоцитів за показниками ФІ, ФЧ, НСТ-тесту до показників інтактної групи, що свідчить про високу активність даних засобів.

Застосування лікувальних засобів – гелю «Імбирол» та мазі «Піносол» – дозволило значно покращити ці показники у інтраназальних змивах до рівня інтактних тварин. На 14-у добу ФІ недостатність становила 16,4% ($p < 0,05$), ФЧ – 13,6% ($p < 0,05$). При цьому показники фагоцитарної активності у групі з хімічним ринітом не відновилися, а у групах з препаратами такі показники не тільки достовірно відновилися, але і перевищували показники у групі з хімічним ринітом без лікування. Так, ФІ на 14-у добу під впливом гелю «Імбирол» перевищував показники групи з ринітом без лікування на 26,3% ($p < 0,05$), маззю «Піносол» – на 24,1% ($p < 0,05$); показники ФЧ покращилися відповідно на 30,5% ($p < 0,05$) та 24,7% ($p < 0,05$).

Метаболічна активність нейтрофілів у групі з ринітом без лікування підвищилася на 14-у добу на 45,5% та самостійно не відновився. Застосування терапевтичних засобів дозволило знизити показник НСТ до норми інтактних тварин, при цьому у порівнянні з групою з ринітом без лікування різниця становила 29,4% ($p < 0,05$) для гелю «Імбирол» і 27% ($p < 0,05$) для мазі «Піносол». Тобто у групі з ринітом без лікування НСТ залишався стабільно високим до кінця терміну спостереження та лікувальні засоби мали виражений позитивний вплив.

Індекс цитотоксичності на 14-у добу досліджував цей показник у групі з ринітом без лікування при застосуванні гелю «Імбирол» на 33% ($p < 0,05$) і мазі «Піносол» на 30,2% ($p < 0,05$) та досягав рівню інтактної групи.

У попередніх дослідженнях нами визначено динаміку змін рівня таких неспецифічних антитіл під впливом хімічного пошкодження. Застосування засобів з антиоксидантними властивостями допоможе оцінити їх вплив на динаміку перебігу запально-деструктивного процесу. Рівень ГЛ достовірно знизився на 20,9% ($p < 0,05$) у всіх експериментальних групах та ГА на 11,7% ($p < 0,05$) на 3-ю добу експерименту. До 14-ої доби застосування лікувальних

засобів – гелю «Імбирол» та мазі «Піносол» – дозволило значно покращити ці показники у сироватці крові. Так, на 14-у добу рівень ГЛ перевищував цей показник у порівнянні з групою з ринітом без лікування при застосуванні гелю «Імбирол» на 30,9% ($p < 0,05$) та 33,5% ($p < 0,05$) у групі з «Піносол». Рівень ГА перевищував рівень групи з ринітом без лікування на 47,4% ($p < 0,05$) та 42,1% ($p < 0,05$) відповідно.

Рівень ГЛ та ГА при застосуванні гелю «Імбирол» перевищував рівень у інтактних тварин на 14-у добу на 8,5% та 11,5% відповідно, що не є достовірно. Застосування лікувального засобу «Піносол» також призводило до стимуляції гуморальної ланки неспецифічної резистентності. До 14-ї доби експерименту такі показники перевищували показники інтактної групи тварин: ГЛ на 10,6%, ГА на 7,6%.

Отримані дані вказують на те, що, не зважаючи на місцеву травму та місцеве запалення, в крові також спостерігаються зміни вроджених факторів гуморального імунітету у щурів із експериментальним хімічним ринітом у порівнянні з інтактними тваринами. При цьому застосування засобів з антиоксидантною активністю повністю компенсувало недостатність власної гуморальної ланки неспецифічної резистентності.

Результати визначення рівня лізоциму у інтраназальних змивах на моделі бактеріального риніту дозволили встановити зниження секреції лізоциму у порівнянні з інтактними тваринами. Так, на 3-ю добу відтворення експериментального бактеріального риніту недостатність лізоциму становила 37,8% у всіх дослідних групах у порівнянні з інтактною групою, що обумовлено стресом, в основі якого лежить відомий імуносупресивний ефект кортикостероїдів, та/або недостатнім відновленням місцевих бактерицидних факторів слизової оболонки носу в результаті запально-деструктивних процесів при моделюванні ринітів. Після застосування препаратів «Імбирол» та «Піносол» на 14-у добу спостерігали вірогідне зростання рівня лізоциму на 29,1% ($p < 0,05$) та 30,3% ($p < 0,05$) відповідно у порівнянні з групою з бактеріальним ринітом без

лікування. Це вказує на зменшення проявів запалення та відновлення функції слизової оболонки, зокрема, стосовно секреції лізоциму.

Застосування з лікувальною метою «Імбиролу» та «Піносолу» сприяло зменшенню проявів запалення і нормалізації функціональної та метаболічної активності фагоцитів. Так, показники ФІ та НСТ-тесту нормалізувалися до кінця терміну спостереження і достовірно не відрізнялися від показників інтактної групи. На 14-у добу ФІ недостатність становила 24,2% ($p < 0,05$), ФЧ – 31,8% ($p < 0,05$) у порівнянні з інтактною групою. При цьому показники фагоцитарної активності у групі з хімічним ринітом не відновилися, а у групах з терапевтичними препаратами такі показники не тільки достовірно відновилися, але і перевищували показники у групі з хімічним ринітом без лікування. Так, ФІ на 14-у добу під впливом гелю «Імбирол» перевищував показники групи з ринітом без лікування на 36,7% ($p < 0,05$), маззю «Піносол» – на 34,4% ($p < 0,05$); показники ФЧ покращилися відповідно на 78,7% ($p < 0,05$) та 72,7% ($p < 0,05$). Метаболічна активність нейтрофілів у групі з ринітом без лікування підвищилася на 17,6% ($p < 0,05$) у порівнянні з інтактною групою на 3-ю добу у всіх експериментальних груп. На 14-у добу НСТ-тест залишався підвищеним на 72,3% та самостійно не відновився. Застосування терапевтичних засобів дозволило знизити показник НСТ до норми інтактних тварин, при цьому у порівнянні з групою з ринітом без лікування різниця становила 39,8% ($p < 0,05$) для гелю «Імбирол» і 38,9% ($p < 0,05$) для мазі «Піносол». Тобто у групі з ринітом без лікування НСТ залишався стабільно високим до кінця терміну спостереження та лікувальні засоби мали виражений позитивний вплив.

Застосування гелю «Імбирол» та мазі «Піносол» сприяло підвищенню активності НК-клітин. Індекс цитотоксичності на 14-у добу дослідів перевищував цей показник у групі з ринітом без лікування при застосуванні гелю «Імбирол» на 58,9% ($p < 0,05$) і мазі «Піносол» на 58,5% ($p < 0,05$) та досягав рівню інтактної групи.

Лікувальні властивості гелю «Імбирол» та мазі «Піносол» дозволили не тільки нормалізувати ці показники, але і їх підвищити. Так, рівень ГЛ на 14-у

добу перевищував цей показник у порівнянні з групою з ринітом без лікування при застосуванні гелю «Імбирол» на 33% та 29,9% у групі з «Піносол» ($p < 0,05$). Рівень ГА перевищував рівень групи з ринітом без лікування на 106,2% та 111,1% відповідно ($p < 0,05$). Рівень ГЛ та ГА при застосуванні гелю «Імбирол» перевищував рівень у інтактних тварин на 14-у добу на 8,5% та 11,5% відповідно, що не є достовірно. Застосування лікувального засобу «Піносол» також призводило до стимуляції гуморальної ланки неспецифічної резистентності.

Таким чином, застосування антиоксидантів місцевої дії з лікувальною метою на тлі відтворення гострого хімічного та бактеріального риніту у щурів приводить до суттєвого поліпшення перебігу запального процесу. Лікувальний ефект гелю «Імбирол» та мазі «Піносол» з антиоксидантними властивостями відбувався за рахунок позитивного впливу на стан показників клітинної та гуморальної неспецифічної резистентності як на місцевому, так і системному рівнях. Застосування засобів з антиоксидантною активністю за умов експериментальної патології повністю компенсувало недостатність власної гуморальної ланки неспецифічної резистентності.

Застосування гелю «Імбирол» на тлі хімічного опіку у щурів приводило до зменшення альтеративних проявів у епітеліальній вустілці досліджених відділів слизової оболонки носу, виразності запальної реакції у власній пластинці, нормалізації функціональної активності слизово-серозних залоз. До кінця експерименту, на відміну від риніту без лікування, новоутворений епітелій вже мав типовий багаторядний миготливий вигляд. За виразністю позитивного впливу на стан слизової оболонки носу гель «Імбирол» перевищував ступінь впливу мазі «Піносол».

Після інтраназального введення гелю «Піносол» на тлі інфікування слизової оболонки носу *Staphylococcus aureus*, у стінці присінку носу щурів простежені різні за виразністю ознаки запалення власної пластинки, потовщення епітелію, повнокровність та гіперемія кровоносних судин. У слизовій оболонці бічної стінки носового ходу місцями залишалася деструкція епітелію, підвищена його десквамація, келихоподібні клітини та слизово-серозні залози залишалися у стані

підвищеної функціональної активності, у власній пластинці підвищений клітинний вміст, кровоносні судини часто повнокровні.

Лікування засобами з антиоксидантною дією – гелем «Імбирол» і маззю «Піносол» – до 14-ї доби спостереження знижує виразність наведених вище морфологічних ознак риніту: на тлі бактеріального запалення у щурів зменшувалися альтеративні прояви у епітеліальній вустілці досліджених відділів слизової оболонки носу, виразність запальної реакції у власній пластинці, нормалізувалася функціональна активність слизово-серозних залоз.

Застосування гелю «Імбирол» на тлі хімічного опіку у щурів приводило до зменшення альтеративних проявів у епітеліальній вустілці досліджених відділів слизової оболонки носу, виразності запальної реакції у власній пластинці, нормалізації функціональної активності слизово-серозних залоз. До кінця експерименту, на відміну від риніту без лікування, новоутворений епітелій вже мав типовий багаторядний миготливий вигляд. За виразністю позитивного впливу на стан слизової оболонки носу гель «Імбирол» перевищував ступінь впливу мазі «Піносол».

Після інтраназального введення гелю «Піносол» на тлі інфікування слизової оболонки носу *Staphylococcus aureus*, у стінці присінку носу щурів простежені різні за виразністю ознаки запалення власної пластинки, потовщення епітелію, повнокровність та гіперемія кровоносних судин. У слизовій оболонці бічної стінки носового ходу місцями залишалася деструкція епітелію, підвищена його десквамація, келихоподібні клітини та слизово-серозні залози залишалися у стані підвищеної функціональної активності, у власній пластинці підвищений клітинний вміст, кровоносні судини часто повнокровні.

Лікування засобами з антиоксидантною дією – гелем «Імбирол» і маззю «Піносол» – до 14-ї доби спостереження знижує виразність наведених вище морфологічних ознак риніту: на тлі бактеріального запалення у щурів зменшувалися альтеративні прояви у епітеліальній вустілці досліджених відділів слизової оболонки носу, виразність запальної реакції у власній пластинці, нормалізувалася функціональна активність слизово-серозних залоз.

Препарати «Імбирол» і «Піносол» проявляли виражену протизапальну активність, яка обумовлюється як місцевою дією на уражену слизову оболонку, так і загальним впливом на загальнотрофічні показники експериментальних тварин.

Так, після 12-ти днів лікування (14-а доба експерименту) гелем «Імбирол» та маззю «Піносол» у тварин не спостерігали проявів риніту.

Застосування гелю «Імбирол» і мазі «Піносол» приводило до достовірного зменшення температури тіла по відношенню до групи з ринітом без лікування протягом всього досліджу. На 5-у добу експерименту показники температури тіла набували рівня вихідних даних.

Зазначені зміни загального стану тварин у поєднанні зі змінами клінічної картини риніту свідчать про виражені протизапальні властивості гелю «Імбирол» і мазі «Піносол». Аналіз динаміки маси тіла у тварин, яких лікували, свідчить про покращення загальнотрофічних процесів, що проявляється в зменшенні падіння маси тіла протягом досліджу в порівнянні з ринітом без лікування. При цьому, починаючи з 5-ї доби експерименту, тварини набирали масу тіла.

Таким чином, застосування досліджуваних препаратів показало, що гель «Імбирол» та мазь «Піносол» на моделі гострого запалення носової порожнини у щурів, викликаного їдким натрієм, проявляють однакову виражену протизапальну активність, яка проявляється як місцевим впливом на уражену слизову оболонку, так і резорбтивним – на загальнотрофічні процеси в організмі експериментальних тварин.

При проведенні напівкількісної оцінки виразності морфологічних ознак патологічного процесу у слизовій оболонці носу (некроз слизової оболонки, деструкція епітелію, запальна реакція у власній пластинці слизової оболонки та підслизовому шарі, функціональна активність келихоподібних клітин та епітеліальних клітин слизово-серозних залоз підслизового шару) після завершення експерименту на зрізах встановлено, що застосування засобів, що мають антиоксидантні властивості, з лікувальною метою достовірно зменшувало

ступінь виразності всіх морфологічних ознак запально-деструктивного процесу до 14-ї доби дослідження майже до показників інтактної групи.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення і нове вирішення актуальної науково-практичної задачі патологічної фізіології – ролі антиоксидантів у патогенезі ринітів різного генезу, що дозволяє патогенетично обґрунтувати принципи корекції даного патологічного процесу.

1. Встановлено, що в патогенезі експериментальних ринітів суттєве значення має порушення в системі ПОЛ/АОЗ, що підтверджено показниками коефіцієнта окисного стресу: при моделюванні хімічного риніту спостерігали його підвищення в інтраназальних змивах до 9,52 ($p < 0,05$) на 3-ю добу та до 6,7 ($p < 0,05$) на 14-у добу; у сироватці крові – до 7,7 ($p < 0,05$) на 3-ю добу та до 3,72 ($p < 0,05$) на 14-у добу; при бактеріальному риніті – до 14,14 ($p < 0,05$) на 3-ю добу та до 8,52 ($p < 0,05$) на 14-у добу; у сироватці крові – до 15,48 ($p < 0,05$) на 3-ю добу та до 9,64 ($p < 0,05$) на 14-у добу. Динаміка змін коефіцієнта окисного стресу демонструє декомпенсований стан прооксидантно-антиоксидантної системи та недостатність власних систем, щоб компенсувати зміни, до кінця експерименту на обох експериментальних моделях ринітів. Ступінь порушення системи ПОЛ та АОЗ був більш виражений при бактеріальному експериментальному риніті, за показниками сироватки крові (на системному рівні).

2. Досліджено потужний позитивний вплив природних антиоксидантів на порушений прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз при хімічному та бактеріальному ринітах. Відновлення параметрів ПОЛ/АОЗ на 14-у добу експерименту характеризувалося зниженням коефіцієнта окисативного стресу: на тлі хімічної травми в інтраназальних змивах при застосуванні гелю «Імбирол» до 1,08 ($p < 0,05$) та при застосуванні мазі «Піносол» до 1,41 ($p < 0,05$); у сироватці крові – відповідно до 1,29 ($p < 0,05$) та 2,79 ($p < 0,05$); на тлі бактеріального риніту в інтраназальних змивах до 0,66 ($p < 0,05$) та 0,86 ($p < 0,05$); у сироватці крові – до

1,055 ($p < 0,05$) та до 1,94 ($p < 0,05$). Місцеве застосування природних антиоксидантів призводить до відновлення декомпенсованого прооксидантно-антиоксидантного балансу слизової оболонки носа в умовах експериментального риніту різного генезу.

3. Встановлено, що у патогенезі обох експериментальних ринітів важлива роль належить порушенням із боку клітинної та гуморальної ланок неспецифічної резистентності як на місцевому, так і системному рівнях. Ступінь дисбалансу імунної системи був вищим при бактеріальному риніті, що характеризувався більш вираженою метаболічною активністю нейтрофілів наприкінці експерименту – у 1,2 рази ($p < 0,05$), більш значним пригніченням інших показників неспецифічної резистентності: рівня лізоциму, ФІ, ФЧ, активності НК-клітин у назальних змивах, рівнів ГЛ та ГА у сироватці крові.

4. Доведено, що застосування гелю «Імбирол» та мазі «Піносол» на тлі хімічної травми призводить до відновлення метаболічної активності фагоцитів, рівня лізоциму, ФІ, ФЧ, активності НК-клітин у назальних змивах, рівнів ГЛ та ГА у сироватці крові до значень інтактного контролю. На тлі бактеріального риніту також відбувалося відновлення вказаних показників, при цьому вміст ГА у сироватці крові достовірно перевищував показники інтактного контролю – для гелю «Імбирол» на 33% ($p < 0,05$) та мазі «Піносол» на 36,3% ($p < 0,05$). Застосування засобів з антиоксидантною активністю за умов бактеріального риніту повністю компенсувало недостатність власних клітинної та гуморальної ланок неспецифічної резистентності.

5. Встановлено розвиток некомпенсованих вогнищевих некротично-деструктивних змін у різних відділах слизової оболонки дихальної порожнини носа, проліферативної запальної реакції у власній пластинці, гіперсекреції епітеліальних клітин слизово-серозних залоз підслизового шару на моделях хімічного та бактеріального ринітів у експериментальних тварин. Застосування місцевих антиоксидантних засобів знижує виразність морфологічних ознак риніту. Ефективність гелю «Імбирол» перевищувала таку мазі «Піносол» на

моделі хімічного риніту за ознаками місцевого і резорбтивного впливу: зменшення набряку, секреції, гіперемії, зменшення маси тіла, підвищення температури.

6. Отримані результати патогенетично обґрунтовують можливість та доцільність застосування місцевих лікувальних засобів з антиоксидантною активністю – гелю «Імбирол» та мазі «Піносол» – при гострому асептичному та бактеріальному ринітах. Використання лікувальних засобів на слизову оболонку носа призводить до формування типового багаторядного миготливого епітелію вже на 7-й день дослідження, нормалізації функціональної активності слизово-серозних залоз до норми до 14-ї доби спостереження.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Азнабаева ЛФ, Арефьева НА. Иммунологические аспекты хронического тонзиллита. Вестник оториноларингологии. 2013; 4: 4-9.
2. Андреева ЛИ, Кожемякин ЛА, Кишкун АА. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой. Лабораторное дело. 1988; (11): 41-43.
3. Арефьева НА, Азнабаева ЛФ. Иммунология, иммунопатология, диагностика иммунных нарушений и их коррекция при заболеваниях верхних дыхательных путей. Российская ринология. 2007; 3: 11-14.
4. Астафьева НГ, Удовиченко ЕН, Гамова ИВ, Перфилова ИА, Наумова ОС. Аллергические и неаллергические риниты: сравнительная характеристика. Лечащий врач. 2013; 4: (10-12).
5. Баранова П, Пуль ВВ, Крижна СІ, Малашенко ТО. Гель «Імбирол» для лікування захворювань верхніх дихальних шляхів. Патент України № 97061. 2015 лют. 25.
6. Бархатова ЕИ, Сафин РГ, Бархатова НА. Применение биологически активных веществ растительного происхождения для лечения простуды и воспаления. Юный ученый. 2016; 6: 42-50.
7. Бережной ВВ, Ершова ИБ, Кунегина ЕН. Острые респираторные заболевания у детей и подростков. Київ; 2013. 140 с.
8. Будихина АС. Роль антимикробных пептидов в патологии заболеваний верхних дыхательных путей. Иммунология. 2017; 38(4): 234-238.
9. Булгакова ВА. Композиция натуральных эфирных масел: место в профилактике и комплексной терапии острых респираторных инфекций у детей. Фарматека. 2016; 4(317): 14-20.
10. Бухарин ОВ, Васильев НВ. Лизоцим и его роль в биологии и медицине. Томск: изд-во Томского ун-та; 1974. 209 с.
11. Гаджимирзаев ГА, Михраилова ЗТ, Ахмедов ИГ, Мурадова ГР. Роль нарушений липидного обмена в патогенезе аллергического ринита. Вестник оториноларингологии. 2011; 5: 15-18.

12. Гарюк ГИ, Харченко ЕИ, Гарюк ОГ. Хронический вазомоторный ринит: терминология, эпидемиология и классификация. Проблемы непрерывной медицинской освіти та науки. 2015; 3: 66-70.
13. Гребова ЛП, Бесараб ГА, Лобанова ЕИ. Профилактика и комплексная терапия ОРВИ: эффективность ингаляционного воздействия натуральных эфирных масел. Consilium Medicum. Болезни органов дыхания. (Прил.) 2013; 01: 60-63.
14. Дубинина ЕЕ, Бупмистров СО, Ходов ДА, Поротов ГЕ. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения. Вопросы медицинской химии. 1995; 41(1): 24-26.
15. Западнюк МП, Западнюк ВИ, Захарин ЕА. Лабораторные животные. Использование в эксперименте. Киев: Высш. шк.; 1983. 878 с.
16. Зенков НК, Панкин ВЗ, Меньщикова ЕБ. Окислительный стресс. Биохимические и патофизиологические аспекты. Москва: Наука; 2001. 343 с.
17. Зупанець І, Черних В. Алгоритм фармацевтичної опіки при риніті. Фармацевт-практик. 2018; 3: 398.
18. Казимирчук ВЕ, Ковальчук ЛВ, Мальцев ДВ. Клиническая иммунология и аллергология. Киев: Феникс; 2009. 524 с.
19. Камышников ВС. Клиническая лабораторная диагностика (методы и трактовка лабораторных исследований). Москва: МЕДпресс; 2015. 720 с.
20. Камышников ВС. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. Т. 2. Минск: Беларусь; 2000, с. 206-207.
21. Каральская ЖЖ, Зрячкин НИ, Макарова ОА, Зайцева ГВ. Рациональное применение назальных препаратов в практике педиатра. Вопросы практической педиатрии. 2014; 9(1): 60-66.
22. Карпенко ІА, Рухмакова ОА. Сучасний стан фармакотерапії вірусного риніту. Ліки України Плюс. 2017; 1(30): 39-41.
23. Карпова ЕП, Вагина ЕЕ. Применение препарата Пиносол в комплексном лечении острых респираторных заболеваний у детей. Русский медицинский журнал. 2012; 24: 1203-1206.

24. Ким ИА, Носуля ЕВ, Орехова КК. Патогенетическое значение оксида азота при аллергическом рините (обзор литературы). Российская ринология. 2015; 2: 68-70.
25. Коваленко НВ, Вікторів АП. Компендіум 2014 — лікарські препарати. Київ: Моріон; 2014. 2448 с.
26. Кондакова ИВ, Какурина ГВ, Смирнова ЛП, Борунов ЕВ. Регуляция пролиферации и апоптоза опухолевых клеток свободными радикалами. Сибирский онкологический журнал. 2005; 1: 58-61.
27. Королюк МА, Иванова ЛИ, Майорова ИГ. Метод определения активности каталазы. Лабораторное дело. 1988; 1: 16-17.
28. Кузовкова НА. Оценка активности естественных киллеров колориметрическим методом. Иммунология. 1991; 4: 59-61.
29. Куліков, АЮ, Пуль-Лузан ВВ, Баранова П. Розробка методик визначення ефірної олії чайного дерева і консервантів у складів гелю «Імбірол». Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. 2015; 1(39); 35-39.
30. Левицька СА, Гоженко АІ, Буяло ВВ. Патолофізіологічне значення хронічних захворювань верхніх і нижніх дихальних шляхів в розвитку частих рецидивів респіраторних вірусних інфекцій у дітей. Актуальные проблемы транспортной медицины. 2014; 1(35); 145-148.
31. Лесиовская ЕЕ. Фитотерапия острых респираторных заболеваний. Здоровоохранение (Минск). 2016; 1: 46-55.
32. Лещуков ДЕ, Парфейников СА. Фармакоэкономические особенности использования антибактериальных лекарственных препаратов для лечения насморка. Современные проблемы науки и образования. 2015; 2-2: 484.
33. Ляхович ВВ, Вавилин ВА, Зенков НК, Меньщикова ЕБ. Активная защита при окислительном стрессе, антиоксидант-респонсивный элемент (обзор). Биохимия. 2016; 71(9): 1183-1198.
34. Меньшиков ВВ, редактор. Критерии оценки методик и результатов клинических лабораторных исследований. Справочное пособие. Москва: Лабора; 2011. 328 с.

35. Меньшиков ВВ, редактор. Лабораторные методы исследования. Справочник. Москва: Медицина; 1987, 155-168.
36. Меньщикова ЕБ, Ланкин ВЗ, Зенков НК, Бондарь ИА, Круговых НФ, Труфакин ВА. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты. Москва: Слово; 2006. 554 с.
37. Меркулов ГА. Курс патологогистологической техники. – М.: Медицина, Ленингр. отд-ние. – 1969. – 424с.
38. Мишарина ТА, Фаткуллина ЛД, Алинкина ЕС, Козаченко АИ, Наглер ЛГ, Медведева ИБ, и др. Влияние приема малых доз эфирных масел на антиоксидантный статус эритроцитов печени и мозга мышей. Прикладная биохимия и микробиология. 2014; 50(1): 101-107.
39. Міжнародна статистична класифікація хвороб та споріднених проблем охорони здоров'я. Десятий перегляд (МКХ-10). Т. 2. Женева: ВООЗ; 2001. 184 с.
40. Носова ЯВ, Аврунин ОГ, Калашник ЮМ, Шушляпина НА. Биотехническая система оценки слизистой оболочки верхних дыхательных путей. Вісник НТУ «ХП». 2014; 36(1079): 19-25.
41. Носова ЯВ. Разработка метода экспресс-диагностики бактериальной микрофлоры полости носа. Проблеми інформаційних технологій. 2013; 13: 99-104.
42. Овчинников АЮ, Мирошниченко НА, Екатеринчев ВА, Смирнов ИВ. Инфекции верхних дыхательных путей у детей и взрослых: рекомендации оториноларинголога. Русский медицинский журнал. 2016; 26: 1739-1742.
43. Орловецкая Н, Редькин Р. Фитотерапия бронхита. Фармацевт. Практик. 2014; 7-8: 30-31.
44. Осауленко ОГ, редактор. Статистиний щорічник України за 2013 рік. Київ; 2014. 533 с.
45. Панченко ЛФ, Давыдов БВ, Теребилина НН, Баронец ВЮ, Журавлева АС. Окислительный стресс при алкогольной болезни печени. Биомедицинская химия, 2013, том 59, вып. 4. С.452-458.

46. Пастушенко ГВ, Марушный ЛБ, Жуков АА. Экспресс-метод определения среднесмертельных доз химических веществ. Гигиена и санитария. 1995; 6: 46-48.
47. Передерый ВГ, Земсков АМ, Бычкова НГ, Земсков ВМ. Иммунный статус, принципы его оценки и коррекции иммунных нарушений. Киев: Здоров'я; 1995. 211 с.
48. Пискунов ГЗ. Клиническая ринология. Москва: МИА; 2006. 560 с.
49. Пигаревский ВЕ. Гистопатология и вопросы патогенеза гриппа (Экспериментальное клинико-анатомическое и вирусологическое исследование). – М.: Медицина, 1964. 172с.
50. Пономарева ЕИ, Маврина АР, Вотинцева ЕО, Молохова ЕИ. Эфирные масла на фармацевтическом рынке. Теоретические и прикладные аспекты современной науки. 2014; 6-2: 116-120.
51. Пуль ВВ, Баранова ИИ. Перспектива розробки відчизняного препарату місцевої дії для лікування верхніх дихальних шляхів. В: Матеріали міжнар. наук.-практ. конф. з міжнар. участю. Косметологія: сьогодні та майбутнє; 2013 лис. 15; Харків. 2013. Харків; 2013, с. 57-58.
52. Пуль ВВ, Баранова І, Дем'яненко ВГ. Методологія дослідження нового засобу місцевої дії для лікування захворювань верхніх дихальних шляхів. В: Матеріали І між нар. наук.-практ. інтернет-конф. Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин; 2014 бер. 20-21; Харків. Харків; 2014, с. 144-145.
53. Пуль ВВ, Баранова І, Осолодченко ТП. Вивчення антимікробної активності препарату місцевої дії для лікування захворювань верхніх дихальних шляхів. Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології. 2014; 3(123); 162-168.
54. Пуль-Лузан ВВ, Баранова ИИ, Мамедова СА. Разработка технологии геля для лечения заболеваний верхних дыхательных путей. Фармация Казахстана. 2014; 9: 50-54.

55. Пуль-Лузан ВВ, Баранова П. Фармакотехнологічні дослідження гелю «Імбирол». В: Матеріали І міжнар. наук.-практ. інтернет-конф. Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії; 2014 лис. 7-8; Харків. Харків; 2014, с. 145-146.

56. Пуль-Лузан ВВ, Крижна СІ. Вивчення антиексудативної активності гелю «Імбирол». В: Матеріали міжнар. наук.-практ. конф. Пріоритети сучасної медицини: теорія і практика; 2015 лют. 6-7; Одеса. Одеса; 2015, с. 172-173.

57. Радциг ЕЮ, Ермилова НВ, Заварохин СИ, Евсикова ММ. Инфекционный ринит: можно ли ускорить нормализацию носового дыхания? Педиатрия. 2016; 95(5): 86-90.

58. Реброва ОЮ. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica. Москва: Медиа Сфера; 2002. 305 с.

59. Рекомендації BSACI щодо діагностики та лікування алергічного та неалергічного риніту (перегляд 2017 р.; перше видання — 2007 р.). Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія. 2018; 1, спецвипуск: 48-61.

60. Рожкова ЕА, Орджоникидзе ЗЖ, Дружинин АЕ, Сейфулла НР, Панюшкин ВВ, Кузнецов ЮМ. Карнозин и антиоксиданты природного происхождения как средства профилактики острого посленагрузочного окислительного стресса. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2007; 70(5): 44-46.

61. Роль воспаления в развитии и течении неаллергических ринитов. Российская ринология. 2015; 1: 58-59.

62. Рябова МА, Галкина ОВ, Пестакова ЛВ, Пособило ЕЕ. К вопросу о лечении острых заболеваний верхних дыхательных путей. Педиатрия. Приложение к журналу Consilium Medicum. 2016; 3: 51–54.

63. Рязанцева ЛТ. Ферменты-антиоксиданты: структурно-функциональные свойства и роль в регулировании метаболических процессов. Вестник Воронежского государственного технического университета. 2014; 7(2): 126-129.

64. Самбур МБ, Мельников ОФ. Оцінка вираженості запальної реакції при моделюванні хронічного риніту у щурів за даними перекисногоперекисногоперекисного окиснення ліпідів крові. Ринологія. 2004; 2: 39-42.

65. Самусенко АЛ. Исследование антиоксидантной активности эфирных масел лимона, розового грейпфрута, кориандра, гвоздики и их смесей методом капиллярной газовой хроматографии. Химия растительного сырья. 2011; 3: 107-112.

66. Сепиашвили РИ, Балмасова ИП. Физиология естественных киллеров. Москва: Медицина-Здоровье; 2005. 456 с.

67. Сидоров КК. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения. Токсикология новых химических веществ. 1973; 13: 47-51.

68. Слабкий ГО, редактор. Рейтингова оцінка стану здоров'я населення, діяльності та ресурсного забезпечення закладів охорони здоров'я України за попередніми даними моніторингу 2010 р. Київ; 2011. 60 с.

69. Соколова ЛВ,. Павх ОІ. Дослідження мікробіологічної чистоти назального емульгелю «Ринітостоп». В: Матеріали III міжнар. наук.-практ. конф. Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів; 2009 жовт. 1-2; Тернопіль. Тернопіль: Укрмедкнига; 2009, с. 67.

70. Соколовский ВВ. Гистохимические исследования в токсикологии. М.: Медицина, Ленингр. отд-ние. 1971. 176с.

71. Солдатов ИБ, Данилин ВА, Митин ЮВ. Профессиональная патология верхних дыхательных путей в химической промышленности. – М.: Медицина, 1976. 188с.

72. Солдатский ЮЛ, Онуфриева ЕК, Гаспарян СФ. Выбор оптимального средства для местного лечения фарингита у детей. На допомогу педіатру. 2014; 1(52): 105-108.

73. Сологуб ТВ, Романцов МГ, Кремень НВ, Александрова ЛМ, Аникина ОВ, Суханов ДС, и др. Свободнорадикальные процессы и воспаление

(патогенетические, клинические и терапевтические аспекты). Учебное пособие для врачей. Москва: Академия Естествознания, 2008. 162 с.

74. Степанов ЕН. Роль нарушения микроциркуляции слизистой оболочки полости носа в патогенезе различных форм хронического ринита. Практическая медицина. 2011; 3-1(50): 11-14.

75. Степанов ЕН. Эпидемиология и особенности течения различных форм хронического ринита. Российская ринология. 2011; 19(2): 32-33.

76. Стефанов АВ, редактор. Доклинические исследования лекарственных средств. Метод. рекомендации. Киев: Авиценна; 2002, с. 116-117.

77. Титов ВН, Лисицын ДМ. Регуляция перекисного окисления *in vivo* как этапа воспаления. Олеиновая кислота, захватчики активных форм кислорода и антиоксиданты. Клиническая лабораторная диагностика. 2015; 6(3): 12.

78. Тихонов ОІ, редактор. Біофармація. Підручник. Харків: НФАУ; Золоті сторінки; 2003. 262 с.

79. Фармацевтична опіка: риніт. Фармацевт-практик. 2018; 3: 38.

80. Флетчер Р, Флетчер С, Вагнер Э. Клиническая эпидемиология. Основы доказательной медицины. Москва: Медиа Сфера; 2004. 352 с.

81. Хабриев РУ, редактор. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ: метод. рек. Москва: Медицина; 2005. 832 с.

82. Ходзицкая ВК, Ходзицкая СВ. Назальная обструкция: некоторые аспекты морфологии, этиопатогенеза, клиники и лечения. Болезни и антибиотики. 2012; 1(6): 81-88.

83. Центр медичної статистики МОЗ України [Інтернет]. Доступно: <http://www.medstat.gov.ua/ukr/statreports.html>.

84. Чебан ЮГ, Карпенко ІА, Рухмакова ОА. Використання фітопрепаратів у терапії ринітів. Фітотерапія. Часопис. 2017; 2(30): 37-41.

85. Чекман ІС. Грип та гострі респіраторні вірусні захворювання: фармакологічний аспект. Сучасні інфекції. 2010; 1: 20-29.

86. Ács K, Balázs VL, Kocsis B, Bencsik T, Böszörményi A, Horváth G. Antibacterial activity evaluation of selected essential oils in liquid and vapor phase on respiratory tract pathogens. *BMC Complement Altern Med*. 2018; 18(1): 227.
87. Akbay E, Arbağ H, Uyar Y, Oztürk K. Oxidative stress and antioxidant factors in pathophysiology of allergic rhinitis. *Kulak Burun Bogaz Ihtis Derg*. 2007; 17(4): 189-96.
88. Altintoprak N, Kar M, Acar M, Berkoz M, Muluk NB, Cingi C. Antioxidant activities of curcumin in allergic rhinitis. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2016; 273(11): P. 3765-3773.
89. Ambade A, Mandrekar P. Oxidative stress and inflammation: essential partners in alcoholic liver disease. *International Journal of Hepatology*. 2012; 2012: 9.
90. Amri I, Mancini E, De Martino L, Marandino A, Lamia H, Mohsen H, et al. Chemical composition and biological activities of the essential oils from three *Melaleuca* species grown in Tunisia. *Int J Mol Sci*. 2012; 13(12): 16580-91.
91. Bardaweel SK, Bakchiche B, ALSalamat HA, Rezzoug M, Gherib A, Flamini G. Chemical composition, antioxidant, antimicrobial and Antiproliferative activities of essential oil of *Mentha spicata* L. (Lamiaceae) from Algerian Saharan atlas. *BMC Complement Altern Med*. 2018; 18(1): 201.
92. Beard S. Rhinitis. *Prim Care*. 2014; 41(1): 33-46.
93. Beatty ER, England TG, Geissler CA, Aruoma OI, Halliwell B. Effects of antioxidant vitamin supplementation on markers of DNA damage and plasma antioxidants. *Proceedings of the Nutrition Society*. 2011; 58(abstract): 44.
94. Bellik Y, Boukraâ L, Alzahrani HA, Bakhotmah BA, Abdellah F, Hammoudi SM, et al. Molecular mechanism underlying anti-inflammatory and anti-allergic activities of phytochemicals: an update. *Molecules*. 2012; 18(1): 322-53.
95. Ben-Arye E, Dudai N, Eini A, Torem M, Schiff E, Rakover Y. Treatment of upper respiratory tract infections in primary care: a randomized study using aromatic herbs. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2011; 2011: 690346.
96. Beutler E, Duron O, Kelly BM. Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med*. 1963; 61: 882-8.

97. Bjelakovic G, Nikolova D, Gluud LL, Simonetti RG, Gluud C. Mortality in randomized trials of antioxidant supplements for primary and secondary prevention: systematic review and meta-analysis. *The Journal of the American Medical Association*. 2017; 297(8): 842-857.
98. Bowler RP, Crapo JD. Oxidative stress in allergic respiratory diseases. *J Allergy Clin Immunol*. 2002; 110(3): 349-56.
99. Brandtzaeg P. Function of mucosa-associated lymphoid tissue in antibody formation. *Immunol. Invest*. 2010; 39(4-5): 303-355.
100. Brandtzaeg P. Mucosal immunity: induction, dissemination, and effector functions. *Scand. J. Immunol*. 2009; 70(6): 505-15.
101. Brandtzaeg P. Secretory IgA: Designed for Anti-Microbial Defense. *Front Immunol*. 2013; 4: 222.
102. Brandtzaeg PI, Johansen FE. Mucosal B cells: phenotypic characteristics, transcriptional regulation, and homing properties. *Immunol. Rev*. 2005; 206(8): 32-63.
103. Brugman S, Perdijk O, van Neerven RJ, Savelkoul HF. Mucosal Immune Development in Early Life: Setting the Stage. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)*. 2015; 63(4): 251-68.
104. Camp JV, Jonsson CB. A Role for Neutrophils in Viral Respiratory Disease. *Front. Immunol*. 2017; 8: 550.
105. Campbell EL, Kao DJ, Colgan SP, Colgan SP. Neutrophils and inflammatory resolution in the mucosa. *Semin. Immunol*. 2015; 27(3): 177-83.
106. Campbell EL, Kao DJ, Colgan SP. Neutrophils and the inflammatory tissue microenvironment in the mucosa. *Immunol. Rev*. 2016; 273(1): 112-120.
107. Canonica GW, Compalati E. Minimal persistent inflammation in allergic rhinitis: implications for current treatment strategies. *Clin Exp Immunol*. 2009; 158(3): 260-71.
108. Chauhan B, Gupta M, Chauhan K. Role of antioxidants on the clinical outcome of patients with perennial allergic rhinitis. *Allergy & Rhinology (Providence)*. 2016; 7(2): e74-e81.

109. Cho SH, Oh SY, Lane AP, Lee J, Oh MH, Lee S, et al. Regulation of nasal airway homeostasis and inflammation in mice by SHP-1 and Th2/Th1 signaling pathways. *PLoS One*. 2014; 9(8): e103685.
110. Choi JG, Jin YH, Lee H, Oh TW, Yim NH, Cho WK, et al. Protective Effect of *Panax notoginseng* Root Water Extract against Influenza A Virus Infection by Enhancing Antiviral Interferon-Mediated Immune Responses and Natural Killer Cell Activity. *Front. Immunol*. 2017; 8(11): 1542-62.
111. Choi SY, Park K. Effect of Inhalation of Aromatherapy Oil on Patients with Perennial Allergic Rhinitis: A Randomized Controlled Trial. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2016; 016: 896081.
112. Cuaron JA, Dulal S, Song Y, Singh AK, Montelongo CE, Yu W, et al. Tea tree oil-induced transcriptional alterations in *Staphylococcus aureus*. *Phytother. Res*. 2013; 27(3): 390-396.
113. Daffu G, del Pozo CH, O'Shea KM, Ananthakrishnan R, Ramasamy R, Schmidt AM. Radical roles for RAGE in the pathogenesis of oxidative stress in cardiovascular diseases and beyond. *International Journal of Molecular Sciences*. 2013; 14(10): 19891-19910.
114. Dajani R, Zove S, Taft P. Lysozyme secretion by submucoasal glands protects the airway from bacterial. *Ann. J. Res. Cell Mol. Biol*. 2005; 32(6): 548-52.
115. Doss M, White MR, Tecele T, Hartshorn KL. Human defensins and LL-37 in mucosal immunity. *J. Leukoc. Biol*. 2010; 87(1): 79-92.
116. Edris, AE. A review phyto-therapy. *Indian J Pharmacol*. 2007; 5(21): 308-323.
117. Eifan AO, Durham SR. Pathogenesis of rhinitis. *Clin Exp Allergy*. 2016; 46(9): 1139-51.
118. Evans MD, Dizdaroglu M, Cooke MS. Oxidative DNA damage and disease: induction, repair and significance. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*. 2014; 567(1): 1-61.
119. Gao M, Singh A, Macri K, Reynolds C, Singhal V, Biswal S, et al. Antioxidant components of naturally-occurring oils exhibit marked anti-inflammatory

activity in epithelial cells of the human upper respiratory system. *Respir Res.* 2011; 12: 92.

120. Ghadersohi S, Tan BK. Contemporary Pharmacotherapy for Allergic Rhinitis and Chronic Rhinosinusitis. *Otolaryngol Clin North Am.* 2017; 50(6): 1135-1151.

121. Gill SK, Teixeira AM, Rosado F, Hankey J, Wright A, Marczak S, et al. The impact of a 24-h ultra-marathon on salivary antimicrobial protein responses. *Int. J. Sports. Med.* 2014; 35(11): 966-71.

122. Gomes Pde S, Fernandes MH. Defensins in the oral cavity: distribution and biological role. *Oral. Pathol. Med.* 2010; 39(1): 1-9.

123. Gómez-Rincón C, Langa E, Murillo P, Valero MS, Berzosa C, López V. Activity of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) essential oil against L3 larvae of *Anisakis simplex*. *Biomed Res Int.* 2014; 48(53): 549-558.

124. Goto Y, Kurashima Y, Kiyono H. Roles of the gut mucosal immune system in symbiosis and immunity. *Rinsho. Ketsueki.* 2015; 56(10): 2205-12.

125. Haba E, Bouhdid S, Torrego-Solana N, Marqués AM, Espuny MJ, García-Celma MJ, et al. Rhamnolipids as emulsifying agents for essential oil formulations: Antimicrobial effect against *Candida albicans* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Int. J. Pharm.* 2014; 476(1-2): 134-141.

126. Halliwell B. Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? *Journal of Neurochemistry.* 2016; 97(6): 1634-1658.

127. Halliwell B. The antioxidant paradox: less paradoxical now? *British Journal of Clinical Pharmacology.* 2013; 75(3): 637-644.

128. Hammer KA, Carson CF, Riley TV. Effects of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) essential oil and the major monoterpene component terpinen-4-ol on the development of single- and multistep antibiotic resistance and antimicrobial susceptibility. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012; 56(2): 909-15.

129. Herman A, Herman AP. Essential oils and their constituents as skin penetration enhancer for transdermal drug delivery: a review. *J. Pharm. Pharmacol.* 2014; 12(31): 125-138.

130. Horváth G, Ács K. Essential oils in the treatment of respiratory tract diseases highlighting their role in bacterial infections and their anti-inflammatory action: a review. *Flavour Fragr. J.* 2015, 30, 331-341.
131. Ipci K, Oktemer T, Muluk NB, Şahin E, Altıntoprak N, Bafaqeeh SA, et al. Alternative products to treat allergic rhinitis and alternative routes for allergy immunotherapy. *Am J Rhinol Allergy.* 2016; 30(5): 8-10.
132. Jambaniñj D, Sulaiman SA, Gillani SW. Technological study of preparing gel from semi-solid extract of *Cacalia hastate* L. *J. Adv. Pharm. Technol. Res.* 2012; 3(1): 25-29.
133. Jiang F, Zhang Y, Dusting GJ. NADPH oxidase-mediated redox signaling: roles in cellular stress response, stress tolerance, and tissue repair. *Pharmacological Reviews.* 2011; 63(1): 218-242.
134. Jones DP. Redefining oxidative stress. *Antioxidants and Redox Signaling.* 2016; 8(9-10): 1865–1879.
135. Jordakieva G, Jensen-Jarolim E. The impact of allergen exposure and specific immunotherapy on circulating blood cells in allergic rhinitis. *World Allergy Organ J.* 2018; 11(1): 19.
136. Kawamoto Y, Ueno Y, Nakahashi E, Obayashi M, Sugihara K, Qiao S, et al. Prevention of allergic rhinitis by ginger and the molecular basis of immunosuppression by 6-gingerol through T cell inactivation. *J Nutr Biochem.* 2016; 27: 112-22.
137. Kilgore D, Najm W. Common respiratory diseases. *Prim Care.* 2010; 37(2): 297-324.
138. Konkel JE, Chen W. Balancing acts: the role of TGF- β in the mucosal immune system. *Trends Mol. Med.* 2011; 17(11): 668-676.
139. Kotova EN, Pivneva ND. The application of essential oils for the treatment of acute rhinitis in the breastfed infants. *Vestn Otorinolaringol.* 2014; 1: 49-51.
140. Krantz C, Janson C, Borres MP, Nordvall L, Alving K, Malinovschi A. Nasal nitric oxide is associated with exhaled NO, bronchial responsiveness and poor asthma control. *J Breath Res.* 2014; 8(2): 026002.

141. Kurashima Y, Goto Y, Kiyono H. Mucosal innate immune cells regulate both gut homeostasis and intestinal inflammation. *Eur J Immunol*. 2013; 43(12): 3108-15.
142. Lai Y, Dilidaer D, Chen B, Xu G, Shi J, Lee RJ, et al. In vitro studies of a distillate of rectified essential oils on sinonasal components of mucociliary clearance. *Am J Rhinol Allergy*. 2014; 28(3): 244-8.
143. Laird K, Phillips C. Vapour phase: a potential future use for essential oils as antimicrobials? *Lett. Appl. Microbiol*. 2012; 54(3): 169-174.
144. Lavieri R, Piccioli P, Carta S, Delfino L, Castellani P, Rubartelli A. TLR costimulation causes oxidative stress with unbalance of proinflammatory and anti-inflammatory cytokine production. *Journal of Immunology*. 2014; 192(11): 5373-5381.
145. Lawrence T, Gilroy DW, Colville-Nash PR, Willoughby DA. Possible new role for NF- κ B in the resolution of inflammation. *Nature Medicine*. 2001; 7(12): 1291-1297.
146. Liakos I, Rizzello L, Scurr DJ, Pompa PP, Bayer IS, Athanassiou A. All-natural composite wound dressing films of essential oils encapsulated in sodium alginate with antimicrobial properties. *Int J Pharm*. 2014; 463(2): 137-45.
147. Liguori I, Russo G, Curcio F, Bulli G, Aran L, Della-Morte D, et al. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin Interv Aging*. 2018; 13: 757-772.
148. Low WL, Martin C, Hill DJ, Kenward MA. Antimicrobial efficacy of liposome-encapsulated silver ions and tea tree oil against *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. *Lett Appl Microbiol*. 2013; 57(1): 33-9.
149. Market Development Support. [Internet]. Available from: <http://www.smd.net.ua/ru/analytic/>.
150. McGhee JR., Fujihashi K. Inside the mucosal immune system. *PLoS Biol*. 2012; 10(9): e1001397.
151. Mittal M, Siddiqui MR, Tran K, Reddy SP, Malik AB. Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2014; 20(7): 1126-1167.

152. Moneret-Vautrin DA, Wayoff M, Kanny G. Local immunologic system of the nose and paranasal sinuses. *Ann. Otolaryngol. Chir. Cervicofac.* 1992; 109(3): 162.
153. Morton A. When lab tests lie ... heterophile antibodies. *Aust. Fam. Physician.* 2014; 43(6): 391-3.
154. Murphy MP, Holmgren A, Larsson NG, Halliwell B, Chang CJ, Kalyanaraman B, et al. Unraveling the biological roles of reactive oxygen species. *Cell Metabolism.* 2011; 13(4): 361-366.
155. Nakagome K, Okunishi K, Imamura M, Harada H, Matsumoto T, Tanaka R, et al. IFN-gamma attenuates antigen-induced overall immune response in the airway as a Th1-type immune regulatory cytokine. *J. Immunol.* 2009; 183(1): 209-20.
156. Nathan C, Cunningham-Bussel A. Beyond oxidative stress: an immunologist's guide to reactive oxygen species. *Nature Reviews Immunology.* 2013; 13(5): 349-361.
157. Okada K, Sato S, Sato A, Mandelboim O, Yamasoba T, Kiyono H. Identification and Analysis of Natural Killer Cells in Murine Nasal Passages. *PLoS One.* 2015; 10(11): e0142920.
158. Onyiah JC, Colgan SP. Cytokine responses and epithelial function in the intestinal mucosa. *Cell. Mol. Life Sci.* 2016; 73(22): 4203-4212.
159. Pabst R. Mucosal vaccination by the intranasal route. Nose-associated lymphoid tissue (NALT)-Structure, function and species differences. *Vaccine.* 2015; 33(36): 4406-13.
160. Pasdara A, Pasdaran A, Sheikhi D. Chapter 16 - Volatile oils: Potential agents for the treatment of respiratory infections. In: Kon K, Rai M. *The Microbiology of Respiratory System Infections.* Vol. 1. Elsevier; 2016, p. 237-261.
161. Patel AB, Gondkar SB, Saudagar RB. Design and evaluation of mucoadhesive gel of glimeriride for nasal delivery. *American journal of pharmacy and health research.* 2013; 1(5): 67-77.
162. Pazyar N, Yaghoobi R, Bagherani N, Kazerouni A. A review of applications of tea tree oil in dermatology. *Int J Dermatol.* 2013; 52(7): 784-90.

163. Pérez-Rosés R, Risco E, Vila R, Peñalver P, Cañigüeral S. Biological and Nonbiological Antioxidant Activity of Some Essential Oils. *J Agric Food Chem*. 2016; 64(23): 4716-24.
164. Platt M. Pharmacotherapy for allergic rhinitis. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2014; 4 Suppl 2: S35-40.
165. Podmore ID, Griffiths HR, Herbert KE, Mistry N, Mistry P, Lunec J. Vitamin C exhibits pro-oxidant properties. *Nature*. 1998; 392(6676): 559.
166. Pul-Luzan VV, Baranova II, Kovalenko SN, Mamedova SA. Rational for the choice of the gelling agent, physical and chemical properties of the gel with a complex of essential oils. *Journal of chemical and pharmaceutical research*. 2015; 7(4): 1532-1535.
167. Pul-Luzan VV, Strilets OP, Martynuk TV. Substantiation for selecting a preservative when developing the gel with essential oils for treating diseases of the upper respiratory tract. *Вісник фармації*. 2015; 1(81): 42-44.
168. Rajesh T, Venkatanagaraju E, Divakar Goli, Syed Jalaluddin Basha. Evaluation of antimicrobial activity of different herbal plant extracts. *IJPSR*. 2014; 5(4): 1460-1468.
169. Rajkowska K, Kunicka-Styczyńska A, Maroszyńska M, Dąbrowska M. The effect of thyme and tea tree oils on morphology and metabolism of *Candida albicans*. *Acta Biochim Pol*. 2014; 61(2): 305-10.
170. Reizis B, Bunin A, Ghosh HS, Lewis KL, Sisirak V. Plasmacytoid dendritic cells: recent progress and open questions. *Annu. Rev. Immunol*. 2011; 29(4): 163-83.
171. Reyes P, Larreal Y, Arias J, Rincón E, Valero N. Allergic rhinitis in asthmatic patients. *Rev Alerg Mex*. 2014; 61(4): 317-26.
172. Richards DB, Wang GS, Buchanan JA. Pediatric Tea Tree Oil Aspiration Treated With Surfactant in the Emergency Department. *Pediatr. Emerg. Care*. 2014; 28(34): 148-154.
173. Samsom J.N. Regulation of antigen-specific regulatory T-cell induction via nasal and oral mucosa. *Crit. Rev. Immunol*. 2004; 24(3): 157-77.

174. Saviuc CM, Drumea V, Olariu L, Chifiriuc MC, Bezirtzoglou E, Lazăr V. Essential oils with microbicidal and antibiofilm activity. *Curr Pharm Biotechnol*. 2015; 16(2): 137-51.
175. Scadding GK, Kariyawasam HH, Scadding G, Mirakian R, Buckley RJ, Dixon T, et al. BSACI guideline for the diagnosis and management of allergic and non-allergic rhinitis (Revised Edition 2017; First edition 2007). *Clin Exp Allergy*. 2017; 47(7): 856-889.
176. Scandalios JG. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2015; 38(7): 995-1014.
177. Semenchenko O. Phytochemical evaluation of some *Salvia* species from Ukrainian flora. *American journal of pharmacy and health research*. 2014; 2(10): 192-198.
178. Sesso HD, Buring JE, Christen WG, Kurth T, Belanger C, MacFadyen J, et al. Vitamins E and C in the prevention of cardiovascular disease in men: the Physicians' Health Study II randomized controlled trial. *JAMA*. 2008; 300(18): 2123-33.
179. Shimada K, Crother TR, Karlin J, Dagvadorj J, Chiba N, Chen S, et al. Oxidized mitochondrial DNA activates the NLRP3 inflammasome during apoptosis. *Immunity*. 2012; 36(3): 401-414.
180. Shyian SP. The study of oxidative homeostasis in patients with chronic polypoid rhinosinusitis. *Український науково-медичний молодіжний журнал*. 2014; 4: 56-58.
181. Sim CS, Lee JH, Kim SH, Han MW, Kim Y, Oh I, et al. Oxidative stress in schoolchildren with allergic rhinitis: propensity score matching case-control study. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2015; 115(5): 391-5.
182. Smith DF, Ishman SL, Tunke DE. Chronic rhinosinusitis in children: race and socioeconomic status. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2013; 149(4): 639-644.
183. Son YO, Pratheeshkumar P, Roy RV, Hitron JA, Wang L, Zhang Z, et al. Nrf2/p62 signaling in apoptosis resistance and its role in cadmium-induced carcinogenesis. *Journal of Biological Chemistry*. 2014; 289(41): 28660-28675.

184. Srivastava HC, Shukla P, Tripathi S and Shanker B: Antioxidant and Antimicrobial activities of Sweet Basil Oils. *Int J Pharm Sci Res* 2014; 5(1): 279-85.
185. Stringaro A, Colone M, Angiolella L. Antioxidant, Antifungal, Antibiofilm, and Cytotoxic Activities of *Mentha* spp. Essential Oils. *Medicines (Basel)*. 2018; 5(4): 112.
186. Sur DKC, Plesa ML. Chronic Nonallergic Rhinitis. *Am Fam Physician*. 2018; 98(3): 171-176.
187. Teixeira LK, Fonseca BP, Barboza BA, Viola JP. The role of interferon-gamma on immune and allergic responses. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 2005; 100(1): 137-44.
188. Tucker PS, Scanlan AT, Dalbo VJ. Chronic kidney disease influences multiple systems: describing the relationship between oxidative stress, inflammation, kidney damage, and concomitant disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2015; 2015: 8.
189. Upton R. The marriage of traditional herbalism and classical pharmacognosy. *Planta Med*. 2012; 78: AL7.
190. Valnes K, Brandtzaeg P, Elgjo K, Stave R. Specific and nonspecific humoral defense factors in the epithelium of normal and inflamed gastric mucosa. Immunohistochemical localization of immunoglobulins, secretory component, lysozyme, and lactoferrin. *Gastroenterology*. 1984; 86(3): 402-12.
191. Vaziri ND, Rodríguez-Iturbe B. Mechanisms of disease: oxidative stress and inflammation in the pathogenesis of hypertension. *Nature Clinical Practice Nephrology*. 2006; 2(10): 582-593.
192. Vaziri ND. Roles of oxidative stress and antioxidant therapy in chronic kidney disease and hypertension. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*. 2014; 13(1): 93-99.
193. Verburg FA, Wäschle K, Reiners C, Giovanella L, Lentjes EG. Heterophile antibodies rarely influence the measurement of thyroglobulin and thyroglobulin antibodies in differentiated thyroid cancer patients. *Horm. Metab. Res*. 2010; 42(10): 736-9.

194. Wallace DV, Dykewicz MS. Seasonal Allergic Rhinitis: A focused systematic review and practice parameter update. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2017; 17(4): 286-294.
195. Wang HF, Yih KH, Yang CH, Huang KF. Anti-oxidant activity and major chemical component analyses of twenty-six commercially available essential oils. *J Food Drug Anal*. 2017; 25(4): 881-889.
196. Woods CM, Hooper DN, Ooi EH, Tan LW, Carney AS. Human lysozyme has fungicidal activity against nasal fungi. *Am. J. Rhinol. Allergy*. 2011; 25(4): 236-40.
197. Wu RQ, Zhang DF, Tu E, Chen QM, Chen W. The mucosal immune system in the oral cavity-an orchestra of T cell diversity. *Int. J. Oral. Sci*. 2014; 6(3): 125-32.
198. Wu Y, Lu J, Antony S, Juhasz A, Liu H, Jiang G, et al. Activation of TLR4 is required for the synergistic induction of dual oxidase 2 and dual oxidase A2 by IFN- γ and lipopolysaccharide in human pancreatic cancer cell lines. *The Journal of Immunology*. 2013; 190(4): 1859-1872.
199. Yumrutas O, Sokme A, Nilgun Ozturk N. Determination of in vitro antioxidant activities and phenolic compounds of different extract of *Salvia verticillata* ssp. *Verticillata* and spp. *Amasiaca* from Turkey's flora. *Journal of applied Pharmaceutical Science*. 2011; 1(10): 43-46.
200. Zambetti G, Ciofalo R. Nasal histamine responses in nonallergic rhinitis with eosinophilic syndrome. *Allergy and Rhinology*. 2015; 6(2): 94-100.
201. Zhang X, Wu Y, Hong Y, Zhu X, Lin L, Lin Q. Preparation and evaluation of dl-praeruptorin A microemulsion based hydrogel for dermal delivery, *Drug Delivery*. 2015; 22: 757-764.
202. Zhang Z, Pratheeshkumar P, Budhraj A, Son Y-O, Kim D, Shi X. Role of reactive oxygen species in arsenic-induced transformation of human lung bronchial epithelial (BEAS-2B) cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2015; 456(2): 643-648.
203. Zhou R, Yazdi AS, Menu P, Tschopp J. A role for mitochondria in NLRP3 inflammasome activation. *Nature*. 2011; 469(7329): 221-225.

204. Zuercher AW, Coffin SE, Thurnheer MC, Fundova P, Cebra JJ. Nasal-associated lymphoid tissue is a mucosal inductive site for virus-specific humoral and cellular immune responses. *J. Immunol.* 2002; 168(4): 1796-803.

ДОДАТКИ

Додаток 1

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Kryghna S.I., Kievskaia Yi.A., Bagmut I.Yu., Titkova A.V., Filipchenko S.N. The study of new composition and acute toxicity of gel "imbyrol" Medical Education, 2017. -№ 3.-P.221-224 (Особистий внесок: підготовка огляду літератури, проведення експериментальних досліджень, оформлення статті до друку).
2. Крижна С.І., Київська Ю.О., Козар В.В., Багмут І.Ю. Дослідження впливу гелю «Імбирол» на морфологічний стан слизової носу щурів при моделюванні травматичного риніту. Актуальні проблеми транспортної медицини. – 2017. –№2(48). – С.66-70. (Особистий внесок: проведення експериментальних досліджень, участь у комплексній оцінці результатів, оформлення статті до друку)
3. Крижна С.І., Київська Ю.О., Тюпка Т.І., Козар В.В. Дослідження впливу гелю «Імбирол» на показники ПОЛ та АОС слизової носу щурів при моделюванні травматичного риніту. Вісник проблем біології і медицини. – 2017. – Вип.4, Т.3(141). – С. 150-153. (Особистий внесок: проведення експериментальних досліджень, участь у комплексній оцінці результатів, оформлення статті до друку).
4. Крижна С.І., Київська Ю.О., Козар В.В. Стан імунологічної резистентності в умовах експериментального бактеріального риніту та його фармакологічної корекції. Вісник проблем біології і медицини. – 2018. – Вип.1, Т.2(143). – С. 137-140. (Особистий внесок: проведення експериментальних досліджень, участь у комплексній оцінці результатів, оформлення статті до друку).
5. Крижна С.І., Київська Ю.О., Козар В.В. Стан клітинної та гуморальної ланок імунітету в умовах експериментального риніту та його фармакологічної корекції. Вісник проблем біології і медицини. – 2018. –

- Вип.2, Т.3(144). – С. 144-147. (Особистий внесок: підготовка огляду літератури, проведення експериментальних досліджень, статистична обробка результатів, оформлення статті до друку).
6. Інформаційний лист № 141-2018 МОЗ України, Укрмедпатентінформ «Комплекс ефірних олій як потенційний коректор неспецифічного імунітету при ринітах різного генезу» Крижна С.І., Київська Ю.О. (Особистий внесок: підготовка огляду літератури, участь у розробці загальної концепції наукової роботи, проведення експериментальних досліджень, статистична обробка результатів, оформлення до друку).
 7. Крижна С.І., Київська Ю.О., Тюпка Т.І., Козар В.В. Дослідження стану оксидативного стресу при експериментальних ринітах різного генезу. Вісник проблем біології і медицини. – 2019. – Вип.1, Т.1(148). – С. 133-137. (Особистий внесок: проведення експериментальних досліджень, участь у комплексній оцінці результатів, оформлення статті до друку).
 8. Крижна С.І., Київська Ю.О., Тіткова А.В., Багмут І.Ю. Ступінь порушення імунітету в умовах експериментального риніту. Конференція «Здобутки клінічної та експериментальної медицини». 2018. С. 34-35. (Особистий внесок: участь в розробці загальної концепції наукової роботи, проведення експериментів, оформлення тез до друку).
 9. S.I. Kryghna, O.I. Zalyubovska, T.I. Tiupka, Yu.A. Kievskia. Features of the immune response in the experimental rhinitis and in the applying of gel "Imbirol". Conference "Theoretical and practical aspectsof the use of biomedical markers in fundamental and applied medicine and biology. March 27-29 2018, Prague, The Czech Republic. Biomedical markers in fundamental and clinical medicine. Vol.2, №1, 2018. P. 75-76. (Особистий внесок: проведення експериментальних досліджень, переклад англійською мовою, статистична обробка результатів, оформлення тез до друку.).
 10. Kryzhna S.I., Kievskia Yu.A., Tyupka T.I., Kozar V.V. Application of natural antioxidants in the composition of gel "Imbirol" for rhinitis of different

- genesis. Journal of education, health and sport. Vol.2, №3, 2018. P. 47-50. (Особистий внесок: підготовка огляду літератури, проведення експериментальних досліджень, статистична обробка результатів, переклад англійською мовою оформлення статті до друку).
11. Крижна С.І., Київська Ю.О. Визначення коефіцієнту оксидативного стресу при експериментальному хімічному риніті. Національний фармацевтичний університет, м. Харків, I наукова-практична інтернет-конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб ті їхня фармакологічна корекція» (18 жовтня 2018р.) -Х.: Вид-во НФаУ, 2018. - 276с. стр 133-134. (Особистий внесок: підготовка огляду літератури, проведення експериментальних досліджень, статистична обробка результатів, оформлення тез до друку).
 12. Крижна С.І., Київська Ю.О. Визначення протизапальної активності гелю «Імбирол». XVII-е чтения В.В. Подвысоцкого: Бюллетень материалов научной конференции (24-25 мая 2018 года). - Одесса: УкрНИИ медицины транспорта, 2018.-187с.С. 113-114. (Особистий внесок: підготовка огляду літератури, проведення експериментальних досліджень, статистична обробка результатів, оформлення тез до друку).
 13. Визначення анти ексудативної активності нової комбінованої мазі «Імбирол» Київська Ю.О., Козар В.В., Крижна С.І. Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів»: матеріали I Міжнар. наук.-практ. конф. (30-31 березня 2017 року). В 2-х.т., Т.2. – Х. : НФаУ, 2017. – 392 с. – (Серія «Наука»). С.160. (Особистий внесок: підготовка огляду літератури, проведення експериментальних досліджень, статистична обробка результатів, оформлення тез до друку).

Додаток 2

ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

1. I Міжнародна науково-практична конференції «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (Харків, 2017) - публікація тез.
2. Підсумкова науково- практична конференція «Здобутки клінічної та експериментальної медицини» (Тернопіль, 2018) - публікація тез.
3. Conference «Theoretical and practical aspects of the use of biomedical markers in fundamental and applied medicine and biology» (March 27-29 2018, Prague, The Czech Republic) - публікація тез, усна доповідь.
4. I Науково-практична інтернет – конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція» (Харків, 2018) - публікація тез, усна доповідь.
5. Наукова конференція XVII-е чтения В.В. Подвысоцкого «Визначення протизапальної активності гелю «Імбирол» (Одеса, 2018) - публікація тез, усна доповідь.

Додаток 3

АКТИ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. «Стан імунологічної активності в умовах експериментального бактеріального риніту та його фармакологічна корекція» та « Вплив гелю «Імбирол» на показники ПОЛ та АОС слизової оболонки носу щурів при моделюванні травматичного риніту», кафедра патологічної фізіології ім. Д. О. Альперна Харківського Національного медичного університету, 05.11.2018 р.
2. «Дослідження стану клітинної та гуморальної ланок імунітету в умовах експериментального риніту та його фармакологічної корекції», кафедра патологічної фізіології і ЦНДЛ Буковинського державного медичного університету, 2018 р.
3. «Дослідження впливу гелю «Імбирол» на морфологічний стан слизової носу щурів при моделюванні травматичного риніту», кафедра патологічної фізіології Чорноморського національного університету імені Петра Могили МОН України, 2018 р.
4. Дослідження механізмів впливу антиоксидантів природного походження гелю «Імбирол» на різних експериментальних моделях ринітів, кафедра загальної та клінічної патологічної фізіології Одеського національного медичного університету, 28.08.2018 р.
5. Дослідження впливу гелю «Імбирол» на показники ПОЛ та АОС слизової носа щурів при моделюванні травматичного риніту, кафедра патологічної фізіології Національного фармацевтичного університету, 27.04.2018 р.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи
Харківського Національного медичного
університету МОЗ України
д. мед. н., професор В.Д. Марковський

« ___ » _____ 2018 року



АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ матеріалу наукового нововведення

Назва пропозиції для впровадження: Стан імунологічної активності в умовах експериментального бактеріального риніту та його фармакологічна корекція.

Установа-розробник, її адреса, виконавці: Національний фармацевтичний університет, кафедра клінічної лабораторної діагностики, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.; Харківська медична академія післядипломної освіти, кафедра клінічної патофізіології, топографічної анатомії та оперативної хірургії, 61176, м. Харків, вул. Амосова, 58. Співробітники та здобувачі кафедри: Крижна С. І., Київська Ю.О., Тюпка Т.І., Козар В.В., Багмут І. Ю.

Джерело інформації: 1.Крижна С.І., Київська Ю.О., Козар В.В. Стан імунологічної резистентності в умовах експериментального бактеріального риніту та його фармакологічної корекції. Вісник проблем біології і медицини. – 2018. – Вип.1, Т.2(143). – С. 137-140.

2. The study of new composition and acute toxicity of gel "imbyrol" Medical Education, 2017. –№ 3.Р.221-224.Kievskaya Yu.A., BagmutI.Yu., Titkova A.V., Filipchenko S.N.

Базова установа, яка проводить впровадження: Кафедра патологічної фізіології ім. Д.О. Альперна Харківського Національного медичного університету.

Форма впровадження: матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри – на практичних заняттях і лекціях на тему: «Патологія реактивності. Імунологічна реактивність», «Запалення».

Терміни впровадження: вересень-листопад 2018 р.

Зауваження та пропозиції: Немає.

Затверджено: на засіданні кафедри 05.11.2018 р. (протокол № 15).

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патологічної
фізіології ім. Д.О. Альперна ХНМУ
д. мед. н., професор

О.В. Ніколаєва

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи
Харківського Національного медичного
університету МОЗ України
д. мед. н., професор Б. Д. Марковський

« ___ » _____ 2018 року

**АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ
матеріалу наукового нововведення**

Назва пропозиції для впровадження: Вплив гелю «Імбирол» на показники ПОЛ та АОС слизової оболонки носу щурів при моделюванні травматичного риніту.

Установа-розробник, її адреса, виконавці: Національний фармацевтичний університет, кафедра клінічної лабораторної діагностики, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.; Харківська медична академія післядипломної освіти, кафедра клінічної патофізіології, топографічної анатомії та оперативної хірургії, 61176, м. Харків, вул. Амосова, 58. Співробітники та здобувачі кафедри: Крижна С. І., Київська Ю.О., Тюпка Т.І., Козар В.В., Багмут І. Ю.

Джерело інформації: Крижна С.І., Київська Ю.О., Тюпка Т.І., Козар В.В. Дослідження впливу гелю «Імбирол» на показники ПОЛ та АОС слизової носу щурів при моделюванні травматичного риніту. // Вісник проблем біології і медицини. – 2017. – Вип. 4, Том. 3(141). – С. 150-153.

Базова установа, яка проводить впровадження: Кафедра патологічної фізіології ім. Д.О. Альперна Харківського Національного медичного університету.

Форма впровадження: матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри – на практичних заняттях і лекціях на тему: «Патофізіологія клітини», «Запалення».

Терміни впровадження: вересень-листопад 2018 р.

Зауваження та пропозиції: Немає.

Затверджено: на засіданні кафедри 05.11.2018 р. (протокол № 15).

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патологічної
фізіології ім. Д.О. Альперна ХНМУ
д. мед. н., професор

О.В. Ніколаєва

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор Чорноморського
національного університету імені Петра
Могили МОН України, д. мед. н., проф.
Іщенко Н.М.

« »



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Назва пропозиції для впровадження: Дослідження впливу гелю «Імбирол» на морфологічний стан слизової носу щурів при моделюванні травматичного риніту.

Установа-розробник, її адреса, виконавці: Національний фармацевтичний університет, кафедра клінічної лабораторної діагностики, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.; Харківська медична академія післядипломної освіти, кафедра клінічної патофізіології, топографічної анатомії та оперативної хірургії, 61176, м. Харків, вул. Амосова, 58. Співробітники та здобувачі кафедр: Крижна С. І., Київська Ю.О., Тюпка Т.І., Козар В.В., Багмут І. Ю.

Джерело інформації: Крижна С.І., Київська Ю.О., Козар В.В., Багмут І.Ю. Дослідження впливу гелю «Імбирол» на морфологічний стан слизової носу щурів при моделюванні травматичного риніту // Актуальні проблеми транспортної медицини. – 2017. – №2 (48). – С.66-70.

Базова установа, яка проводить впровадження: Чорноморський національний університет імені Петра Могили МОН України, 54003, м. Миколаїв, вул. 68 Десантників, 10, кафедра патофізіології.

Форма впровадження: в навчальний процес – у матеріали лекцій і практичних занять за темою «Запалення».

Терміни впровадження: 2018-2020 навч. рр.

Зауваження та пропозиції: не вносилися.

Відповідальний за впровадження:
професор кафедри патофізіології,
д. мед. н., проф.

 Климченко М.О.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»



Перший проректор з науково-педагогічної (інноваційної та науково-дослідної) роботи
Національного фармацевтичного університету МОЗ України
проф. Загайко А.Л.

«___» _____ 2018 року

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ матеріалу наукового нововведення

Назва пропозиції для впровадження: Дослідження впливу гелю «Імбирол» на показники ПОЛ та АОС слизової носу щурів при моделюванні травматичного риніту.

Установа-розробник, її адреса, виконавці: Національний фармацевтичний університет, кафедра клінічної лабораторної діагностики, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.; Харківська медична академія післядипломної освіти, кафедра клінічної патофізіології, топографічної анатомії та оперативної хірургії, 61176, м. Харків, вул. Амосова, 58. Співробітники та здобувачі кафедри: Крижна С. І., Київська Ю.О., Тюпка Т.І., Козар В.В., Багмут І. Ю., Тіткова А. В.

Джерело інформації:

Крижна С.І., Київська Ю.О., Тюпка Т.І., Козар В.В. Дослідження впливу гелю «Імбирол» на показники ПОЛ та АОС слизової носу щурів при моделюванні травматичного риніту // Вісник проблем біології і медицини. – 2017. – Вип. 4, Том. 3(141). – С. 150-153.

Базова установа, яка проводить впровадження: Кафедра патологічної фізіології Національного фармацевтичного університету

Форма впровадження: в навчальний процес – у матеріали лекцій і семінарських занять.

Терміни впровадження: 2018-2020 навч. рр.

Зауваження та пропозиції: Немає.

Затверджено на засіданні кафедри протокол № 17 від 27.04. 2018 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патологічної фізіології
Національного фармацевтичного університету
д.мед.н., професор

Н.М. Кононенко



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

В.о. ректора Одеського національного
медичного університету МОЗ України
професор Сухін Ю.В.

2018 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ матеріалу наукового нововведення

Назва пропозиції для впровадження: Дослідження механізмів впливу антиоксидантів природного походження гелю «Імбирол» на різних експериментальних моделях ринітів.

Установа-розробник, її адреса, виконавці: Національний фармацевтичний університет, кафедра клінічної лабораторної діагностики, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.; Харківська медична академія післядипломної освіти, кафедра клінічної патофізіології, топографічної анатомії та оперативної хірургії, 61176, м. Харків, вул. Амосова, 58. Співробітники та здобувачі кафедри: Крижна С. І., Київська Ю.О., Тюпка Т.І., Козар В.В., Багмут І. Ю.

Джерело інформації: Kryzhna S.I., Kievskya Yu.A., Tyupka T.I., Kozar V.V. APPLICATION OF NATURAL ANTIOXIDANTS IN THE COMPOSITION OF GEL "IMBIROL" FOR RHINITIS OF DIFFERENT GENESIS. Journal of education, health and sport. – Vol.2. – №3. – 2018. – P. 47-50.

Базова установа, яка проводить впровадження: Кафедра загальної та клінічної патологічної фізіології Одеського національного медичного університету

Форма впровадження: матеріали використовуються в навчальному процесі кафедри – лекційному курсі та практичних заняттях.

Терміни впровадження: 2018–2019 навчальний рік.

Зауваження і пропозиції: не вносились. Обговорено та затверджено на засіданні кафедри загальної та клінічної патологічної фізіології, протокол № 1 від 28 серпня 2018 р.

Відповідальний за впровадження:

завідувач кафедри загальної та клінічної патологічної
фізіології Одеського національного медичного
університету МОЗ України, д.мед.н., професор

Вастьянов Р.С.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор з науково-педагогічної роботи
Буковинського державного медичного університету МОЗ України
к. мед. н., доцент
Геруш І. В.
« ___ » _____ 2018 року



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ матеріалу наукового нововведення

Назва пропозиції для впровадження: Дослідження стану клітинної та гуморальної ланок імунітету в умовах експериментального риніту та його фармакологічної корекції.

Установа-розробник, її адреса, виконавці: Національний фармацевтичний університет, кафедра клінічної лабораторної діагностики, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.; Харківська медична академія післядипломної освіти, кафедра клінічної патофізіології, топографічної анатомії та оперативної хірургії, 61176, м. Харків, вул. Амосова, 58. Співробітники та здобувачі кафедри: Крижна С. І., Київська Ю.О., Тюпка Т.І., Козар В.В., Багмут І. Ю.

Джерело інформації: Крижна С.І., Київська Ю.О., Козар В.В. Стан клітинної та гуморальної ланок імунітету в умовах експериментального риніту та його фармакологічної корекції. Вісник проблем біології і медицини. – 2018. – Вип.2, Т.3(144). – С. 144-147.

Базова установа, яка проводить впровадження: Кафедра патологічної фізіології і ЦНДЛ Буковинського державного медичного університету


Форма впровадження: в навчальний процес – у матеріали лекцій і семінарських занять.

Терміни впровадження: 2018-2020 навч. рр.

Зауваження та пропозиції: Немає.

Затверджено на засіданні кафедри 2018 р., протокол № 1

Відповідальний за впровадження:

Професор кафедри патологічної фізіології
Буковинського державного медичного університету
д. мед. н., професор 

Мислицький В.Ф.