

©М. А. Колішецька, Н. Г. Семенців, О. В. Садляк, М. Л. Байда
Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

ОСОБЛИВОСТІ МОРФОЛОГІЧНИХ ТА МЕТАБОЛІЧНИХ ЗМІН В БРОНХАХ ТА ЛЕГЕНЯХ У ДИНАМІЦІ ФОРМУВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ БРОНХІАЛЬНОЇ АСТМИ

Резюме. За останнє десятиліття спостерігається значне збільшення кількості випадків алергійних захворювань, насамперед бронхіальної астми (БА), що розглядається як проблема світового рівня й перебуває в центрі уваги клініцистів різних спеціальностей. На сучасному етапі БА є комплексним захворюванням із різними клініко-патогенетичними варіантами перебігу, особливостями реакції на проведене лікування та віддаленими результатами захворювання.

Мета дослідження – вивчити морфологічні та метаболічні зміни в бронхах та легенях морських свинок у динаміці формування експериментальної бронхіальної астми.

Матеріали і методи. Результати проведених патоморфологічних досліджень встановили, що застосування даної експериментальної моделі для морських свинок спричинило спазм гладкої м'язової тканини у бронхах дрібного та середнього калібрів, артеріальних судинах легень із вираженим звуженням їхнього простору, а також еозинофілну та лімфоцитарну інфільтрації, особливо на 19-ту добу експерименту, яке в подальшому (33-я доба) призводило до розвитку вогнищового ателектазу, пневмосклерозу та емфіземи легень.

Результати досліджень та їх обговорення. Результати проведених біохімічних досліджень показали активізацію протеолітичних процесів у бронхах на усіх стадіях їх розвитку на тлі депресії показників антипротеазного потенціалу, особливо на 33-ю добу експерименту – зростає вміст азоальбуміну на 107,2 % ($p < 0,05$), азоказеїну – на 133,8 % ($p < 0,05$) і знижується концентрація α_2 -макроглобуліну на 64,6 % ($p < 0,05$) порівняно з контролем. Формування бронхіальної астми спричиняє порушення протеїназно-інгібіторної системи в легенях, що проявляється достовірним поетапним зростанням лізису дрібно і великодисперсних білків в умовах компенсаторного підвищення вмісту α_2 -макроглобуліну на 5-ту добу експерименту з подальшим їх зниженням. Найпомітніші зміни протеїназно-інгібіторної системи спостерігали в найпізніший термін (33-я доба) спостереження – зростає вміст азоальбуміну на 85,9 % ($p < 0,05$), азоказеїну – на 96,3 % ($p < 0,05$) та знижувався рівень α_2 -макроглобуліну на 48,5 % ($p < 0,05$) в легенях відносно показників контролю.

Висновки. В динаміці розвитку експериментальної БА відмічають посилення протеазних реакцій із початковою активізацією, а далі депресією активності інгібіторного захисту, що свідчить про виражений дисбаланс протеїназно-інгібіторної системи, починаючи з раннього періоду формування цієї патології.

Ключові слова: бронхіальна астма; азоальбумін; азоказеїн; α_2 -макроглобулін.

ВСТУП За останнє десятиліття спостерігається значне збільшення кількості випадків алергійних захворювань, насамперед бронхіальної астми (БА), що розглядається як проблема світового рівня й перебуває в центрі уваги клініцистів різних спеціальностей [9, 10]. На сучасному етапі БА є комплексним захворюванням із різними клініко-патогенетичними варіантами перебігу, особливостями реакції на проведене лікування та віддаленими результатами захворювання [1, 13].

Незважаючи на сучасні методи діагностики та лікування, поширеність БА зростає у більшості країн світу, збільшується кількість випадків тяжкого перебігу захворювання, госпіталізацій та летальних наслідків, тому проблема бронхіальної астми є надзвичайно актуальною [12,14]. Щороку переглядаються й удосконалюються критерії її діагностики й лікування, однак багато питань залишається не до кінця вирішеними.

Метою дослідження було вивчити морфологічні та метаболічні зміни в бронхах та легенях морських свинок у динаміці формування експериментальної бронхіальної астми.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Експериментальні дослідження проводили на 125 морських свинок (самці) масою 180–220 г, яких поділили на 5 груп по 25 тварин у кожній. До першої групи (контроль) віднесли інтактних морських свинок, до другої – тварин з експериментальною БА (5-та доба), до третьої – морські свинки на 19-ту добу експерименту, до четвертої тварин з експериментальною БА (26-та доба), до п'ятої – тварини на 33-ю добу БА. З метою більш детального аналізу показників протеїназно-інгібіторної системи (ПІС) умовно виділяли два періоди розвитку експериментальної бронхіальної астми: ранній і пізній. Ранній період включав групу тварин із БА на 5-ту

та 19-ту доби експерименту. Пізній – морські свинки на 26-ту та 33-ю доби БА.

Експериментальну модель БА відтворювали на морських свинках за методом В. І. Бабица (1979). Усіх тварин утримували в стандартних умовах віварію Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького. Евтаназію тварин проводили шляхом декапітації з дотриманням Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986).

На 19; 33 доби досліду тварин із дослідної та контрольної груп декапітували за умов ефірного наркозу. Проводили повний патологоанатомічний розтин з відбором зразків бронхів та легень для гістологічного дослідження [4, 7]. Матеріал (шматочки бронхів, легень із різних часток) фіксували в 10 % нейтральному розчині формаліну, зневоднювали у висхідному ряді спиртів із подальшою заливкою в парафін. З парафінових блоків виготовляли гістозрізи на санному мікротомі MC-2, фарбували гематоксиліном та еозином за загальноприйнятою методикою [3, 5, 8]. Мікроскопію проводили з допомогою мікроскопа OLIMPUS CX-41 та фотокамери OLIMPUS C-5050.

Стан метаболічних процесів оцінювали за окремими показниками протеїназно-інгібіторної системи, а саме за лізисом азоальбуміну (розпад низькомолекулярних протеїнів), азоказеїну (розпад високомолекулярних протеїнів) та інгібітора протеолізу – за вмістом α_2 -макроглобуліну за методом К. Н. Веремєєнко, О. П. Голобородько, 1988 [2]. Статистичне опрацювання одержаних даних здійснювали за методом Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ
При патоморфологічному дослідженні як на 19-ту, так і 33-ю доби внутрішні органи морських свинок контрольної

та дослідної груп зберігали характерну анатомічну будову. При гістологічному дослідженні структура легень тварин контрольної групи на 19-ту та 33-тю доби відповідала фізіологічній нормі. У респіраторній частині легень альвеолярні ходи, альвеоли різної форми та діаметра добре розвинуті. Міжальвеолярні перегородки без структурних змін (рис. 1). Просвіт бронхів різного калібру та бронхіол був широким, слизова оболонка складчаста. Біля бронхів наявні бронхіальні артерії, з достатньо широким просвітом, ядра гладко-м'язових клітин чіткі, однорідно забарвлені, рівномірно розміщені.

Гістологічна структура легень морських свинок дослідної групи на 19-ту добу експерименту характеризувалася звуженням просвіту бронхів, із деструкцією та десквамацією епітеліального покриву. Стінка окремих бронхів потовщена, відмічали клітинну інфільтрація навколо бронхів. У просвіті бронхів наявний вміст, переважно бронхіального слизу та формених елементів, серед яких диференціювали еозинофіли. М'язовий шар бронхів гіпертрофований, волокна фрагментовані, ядра гладко-м'язових клітин збільшені, неоднорідно забарвлені, місцями ущільнені або розміщені окремими групами, що вказувало на розвиток бронхоспазму (рис. 2, 3). Відмічали спазм та звуження просвіту артеріальних судин, потовщення міжальвеолярних перегородок, набряк та ви-

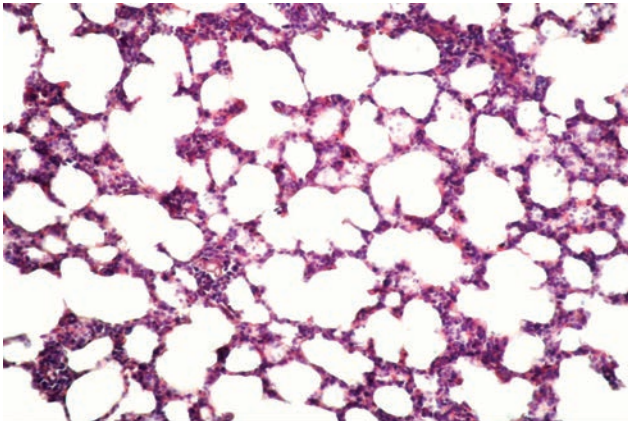


Рис. 1. Альвеолярний стан паренхіми легень тварин контрольної групи, 33 доба досліді. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Ок. 10, об. 10.

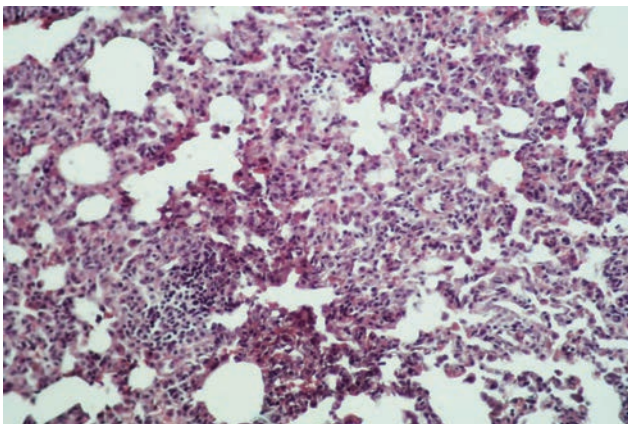


Рис. 2. Легені морських свинок дослідної групи. Потовщення, клітинна інфільтрація міжальвеолярних перегородок, 19 доба. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Ок. 10, об. 20.

ражену лімфоцитарну реакцію, яка проявлялася наявністю лімфоїдних фолікулів.

На 33-тю добу експерименту, окрім вищеописаних мікроскопічних змін, у легенях морських свинок дослідної групи спостерігали ділянки часткового або повного ателектазу та пневмосклерозу, а також вогнищеву альвеолярну емфізему. Так, у респіраторному відділі легень морських свинок дослідної групи були наявні вогнища з нечіткими контурами альвеол, стінки яких потовщені й прилягали одна до одної, альвеолярні капіляри та вени були розширені, переповнені кров'ю, відмічали сладж еритроцитів, мікротромби та крововиливи (рис. 4).

Разом із ділянками ателектазу спостерігали вогнища альвеолярної емфіземи, які проявлялися розтягнутими альвеолами, витонченням, атрофією та розривом міжальвеолярних перегородок, наявністю різного розміру порожнин. Капіляри звужені, стиснуті, практично без еритроцитів.

Істотну роль у механізмі розвитку бронхіальної астми відіграє протеїназно-інгібіторна система. Дисбаланс цієї системи може призвести до переважання процесів катаболізму протеїнів, руйнування легеневої тканини і незворотних патологічних змін [6,11].

Результати біохімічних досліджень свідчать, що у тварин за умов розвитку експериментальної бронхіальної

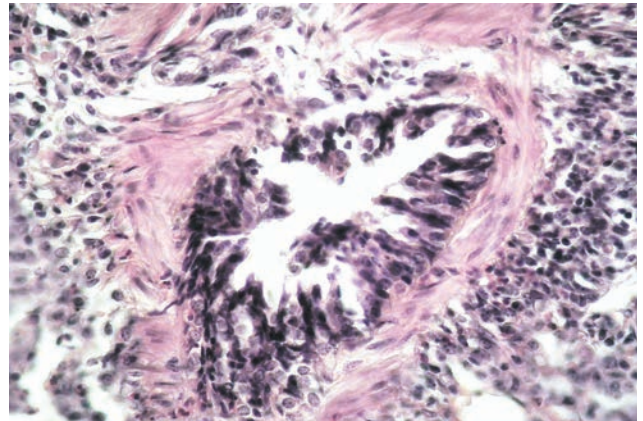


Рис. 3. Бронх морських свинок дослідної групи. Звуження просвіту, десквамація епітеліального покриву та гіпертрофія ядер клітин м'язового шару. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Ок. 10, об. 40.

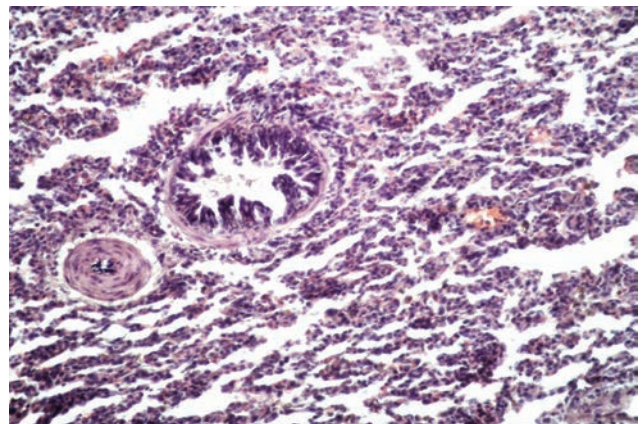


Рис. 4. Вогнища ателектазу в легенях морських свинок на 33-тю добу досліді. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Ок. 10, об. 20.

астми наявні метаболічні зміни, а саме характерні ознаки порушення ПІС. Так, було зафіксовано підвищення вмісту азоальбуміну в бронхах на 5-ту і 19-ту доби БА відповідно на 42,0 % ($p \leq 0,05$) і 52,2 % ($p \leq 0,05$) порівняно з контролем. В подальшому на 26-ту добу розвитку цієї патології виявлено ще більшу прогресію вмісту азоальбуміну на 69,7 % ($p < 0,05$) проти першої групи тварин. Пізніше, на 33-ю добу експерименту спостерігали ще суттєвіше зростання його рівня в бронхах на 107,2 % ($p < 0,05$) проти інтактних морських свинок, що свідчить про стимуляцію процесів протеолізу, особливо в пізній період цієї експериментальної моделі хвороби.

Визначення наступного показника протеолітичної активності – азоказеїну в бронхах залежно від тривалості дії антигену також показало його зростання на 48,5 % ($p \leq 0,05$) і 73,5 % ($p \leq 0,05$) в ранньому періоді розвитку експериментальної БА (5-та і 19-та доби) порівняно з інтактною групою тварин. У четвертій та п'ятій груп морських свинок при даному експерименті рівень азоказеїну в бронхах і надалі підвищується відповідно на 98,5 % ($p < 0,05$) і на 133,8 % ($p < 0,05$) порівняно з контролем.

Підсумовуючи дослідження показників протеїназ в бронхах, можна зробити висновок про стимуляцію процесів протеолізу і їх інтенсифікацію в міру розвитку патологічного процесу.

Результати досліджень, які ми провели, показали подібну тенденцію зрушень процесів протеолізу і в легенях. На це вказує збільшення протеолітичної активності, що підтверджується достовірним зростанням лізису азоальбуміну та азоказеїну. Так, спостерігаємо підвищення показників азоальбуміну в легенях у ранній період розвитку БА (5-та, 19-та доби) відповідно на 31,8 % ($p \leq 0,05$) і 42,4 % ($p \leq 0,05$) порівняно з контрольною групою. Аналогічний напрямок змін виявлено під час дослідження рівня азоказеїну, який також зростає за умов розвитку БА як на 5-ту добу на 45,1 % ($p \leq 0,05$), так і на 19-ту добу цієї експериментальної моделі хвороби на 51,25 % ($p \leq 0,05$) порівняно з групою інтактних тварин.

Пізній період експериментальної БА характеризувався як підвищенням азоальбуміну на 49,43 % ($p \leq 0,05$) та 85,9 % ($p \leq 0,05$) на 26-ту і 33-ю доби відповідно, порівняно з тваринами першої групи, так і поступовим зростанням азоказеїну в легенях відповідно на 64,6 % ($p \leq 0,05$) і 96,3 % ($p \leq 0,05$) проти контрольних величин, що підтверджує активізацію процесів протеолізу.

Щодо активності вмісту білкового інгібітора в бронхах за умов формування бронхіальної астми, виявлено його неоднаправлені зміни вже у ранньому періоді. Так, на

5-ту добу розвитку БА спостерігаються досить стрімке підвищення активності α_2 -макроглобуліну в бронхах на 52,4 % ($p \leq 0,05$), а пізніше, на 19-ту добу експерименту виявлено достовірне його зниження на 37,8 % ($p \leq 0,05$) проти показників інтактною групи морських свинок, що дає підставу стверджувати про пригнічення інгібіторного захисту.

Визначення активності α_2 -макроглобуліну в бронхах у пізній період формування БА виявило поступове зниження його на 45,1% ($p < 0,05$) на 26-ту і на 64,6 % ($p < 0,05$) на 33-ю доби експерименту порівняно з першою групою морських свинок.

Подібний напрямок і однаправленість змін встановлені щодо активності інгібітора протеїназ на дослідні доби експериментальної БА в легенях. Даний показник підвищується на 29,7 % ($p \leq 0,05$) на 5-ту добу і не зазнає достовірних змін на 19-ту добу експерименту порівняно з групою контролю ($p \leq 0,05$). У пізньому періоді встановлено достовірне зниження рівня α_2 -макроглобуліну відповідно на 30,7 % ($p \leq 0,05$) та на 48,5 % ($p \leq 0,05$) відносно інтактних морських свинок.

ВИСНОВКИ 1. У дослідженні висвітлено, що застосування морським свинкам даної експериментальної моделі спричинило спазм гладкої м'язової тканини у бронхах дрібного та середнього калібрів, артеріальних судинах легень із вираженим звуженням їхнього простору, а також еозинофільну та лімфоцитарну інфільтрацію, особливо на 19-ту добу експерименту, яке в подальшому (33-я доба) призвело до розвитку вогнищового ателектазу, пневмосклерозу та емфіземи легень.

2. Одержані результати біохімічних досліджень дають підставу думати про порушення метаболічних процесів, яке проявляється інтенсивною стимуляцією лізису білків і початковим компенсаторним зростанням активності інгібітора протеаз у бронхах та легенях у ранній період експериментальної бронхіальної астми. В динаміці розвитку експериментальної моделі БА можна зробити висновок про ще суттєвіший дисбаланс функціонального стану протеїназно-інгібіторної системи як в бронхах, так і в легенях, а саме зростання протеолітичної активності на тлі недостатньо виражених компенсаторних механізмів білкового інгібітора з переважанням механізмів ушкодження над механізмами захисту.

Перспективи подальших досліджень У подальшому планується дослідити морфологічні особливості та метаболічні зміни в бронхах та легенях морських свинок та їх фармакологічну корекцію в динаміці розвитку експериментальної бронхіальної астми.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бронхіальна астма / М. С. Регада, М. М. Регада, Л. О. Фурдичко, М. А. Колішецька. – Вид. п'яте, доп. та переробл. – Львів, 2012. – 147 с.
2. Веремеєнко К. Н. Протеоліз в нормі і при патології / К. Н. Веремеєнко, О. П. Голобородько, А. І. Кизим. – К. : Здоров'я, 1988. – 200 с.
3. Горальський Л. П. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології / Л. П. Горальський, В. Т. Хомич, О. І. Кононський. – Житомир : Полісся, 2005. – 288 с.
4. Зон Г. А. Патологоанатомічний розтин тварин / Г. А. Зон, М. В. Скрипка, Л. Б. Івановська. – Донецьк, 2009. – 189 с.
5. Меркулов Г. А. Курс патологистологической техники / Г. А. Меркулов. – Л. : Медицина, 1969. – 423 с.

6. Михальчук В. Н. Роль ингибиторов протеиназ в патологии человека / В. Н. Михальчук // Украинский НИИ медицины транспорта. – 2008. – Т. 7, № 4. – С. 73–76.
7. Патологічна анатомія тварин / за ред. П. П. Урбановича, М. К. Потоцького. – К. : Ветінформ, 2008. – 880 с.
8. Потоцький М. К. Основи гістопатологічної техніки / М. К. Потоцький. – К., 2001. – 66 с.
9. Чернишова О. Є. Диференційований підхід до лікування й вторинної профілактики бронхіальної астми на тлі персистуючих інфекцій у дітей / О. Є. Чернишова // Здоров'я ребенка. – 2016. – № 8. – С. 26–34.
10. Тяжка О. В. Прогнозування особливостей клінічного перебігу бронхіальної астми у дітей / О. В. Тяжка, Ю. О. Савенко // Современная педиатрия. – 2014. – № 7(63). – С. 120–123.

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

12. Dodig S. Exhaled breath condensate – from an analytical point of view / S. Dodig, I. Epelak // Biochemia Medica. – 2013. – Vol. 23 (3). – P. 281–295.

13. Kit B. K. Trends in preventive asthma medication use among children and adolescents, 1988-2008 / B. K. Kit, A. E. Simon, C. L. Ogden // Pediatrics. – 2012. – No. 129. – P. 62–70.

14. Liang S. Beta-2 adrenergic receptor (ADRB2) gene polymorphisms and the risk of asthma: A meta-analysis of case-control studies / S. Liang // PLoS ONE. – 2014. – Vol. 9, No. 8. P. e104488.

Отримано 04.09.18

Електронна адреса для листування: marta.kolishetska@gmail.com

©M. A. Kolishetska, N. G. Sementsiv, O. V. Sadlyak, M. L. Baida
Danylo Halytskyi Lviv National Medical University

THE FEATURES OF MORPHOLOGICAL AND METABOLIC CHANGES IN BRONCHI AND LUNGS IN THE DYNAMICS OF THE FORMATION OF EXPERIMENTAL ASTHMA

Summary. Over the past decade, there has been a significant increase in the number of cases of allergic diseases, primarily bronchial asthma (BA), which is regarded as a world-class problem and is the focus of attention of clinicians of various specialties. At the present stage, asthma is a complex disease with various clinical and pathogenetic variants of the course, features of the response to treatment and long-term results of the disease.

The aim of the study – to learn the morphological and metabolic changes in the bronchi and lungs of guinea pigs in the dynamics of the formation of experimental asthma.

Materials and Methods. The performed pathomorphological studies have found that the use of this experimental model caused spasm of smooth muscle tissue in the small and middle caliber of bronchi, arterial vessels of the lungs with pronounced narrowing of their space, as well as eosinophilic and lymphocytic infiltration, especially on the 19th day of the experiment, which in the future (33 days) resulted in the development of focal atelectasis, pneumosclerosis and emphysema of the lungs.

Results and Discussion. The results of the conducted biochemical studies showed the activation of proteolytic processes in the bronchi at all stages of their development against the backdrop of inhibitory system, especially on the 33rd day of the experiment – the content of azoalbumin increased by 107.2 % ($p < 0.05$), azocasein increased by 133.8 % ($p < 0.05$) and the concentration of alpha-2-macroglobulin decreased by 64.6 % ($p < 0.05$) compared with control. The formation of bronchial asthma causes a violation of the proteinase-inhibitory system in the lungs, which manifests itself in a credible phase-out increase in the lysis of proteins in conditions of compensatory enhancement of α_2 -macroglobulin content at the 5th day of the experiment with subsequent reduction. The most notable changes in the proteinase-inhibitory system were observed at the latest (33rd day) of our observation – the content of azoalbumin increased by 85.9 % ($p < 0.05$), azocasein increased by 96.3 % ($p < 0.05$), and the level of α_2 -macroglobulin decreased by 48.5 % ($p < 0.05$) in the lungs relative to the control parameters.

Conclusions. Thus, in the dynamics of the development of experimental asthma there is an increase in protease reactions with initial activation, and then by depression of the activity of inhibitory protection, indicating a pronounced imbalance of the proteinase-inhibitory system from the early period of the formation of this pathology.

Key words: asthma; azoalbumin; azocasein; α_2 -macroglobulin.

©M. A. Колишецкая, Н. Г. Семенцев, О. В. Садляк, М. Л. Байда
Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого

ОСОБЕННОСТИ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ И МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В БРОНХАХ И ЛЕГКИХ В ДИНАМИКЕ ФОРМИРОВАНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

Резюме. За последнее десятилетие наблюдается значительное увеличение количества случаев аллергических заболеваний, прежде всего бронхиальной астмы (БА), что рассматривается как проблема мирового уровня и находится в центре внимания клиницистов разных специальностей. На современном этапе БА является комплексным заболеванием с различными клинико-патогенетическими вариантами течения, особенностями реакции на проводимое лечение и отдаленными результатами заболевания.

Цель исследования – изучить морфологические и метаболические изменения в бронхах и легких морских свинок в динамике формирования экспериментальной бронхиальной астмы.

Материалы и методы. Проведенные патоморфологические исследования установили, что применение данной экспериментальной модели для морских свинок вызвало спазм гладкой мышечной ткани в бронхах мелкого и среднего калибра, артериальных сосудах легких с выраженным сужением их пространства, а также эозинофильной и лимфоцитарной инфильтрацией, особенно на 19-е сутки эксперимента, которое в дальнейшем (33-е сутки) приводило к развитию очагового ателектаза, пневмосклероза и эмфиземы легких.

Результаты исследований и их обсуждение. Результаты проведенных биохимических исследований показали активизацию протеолитических процессов в бронхах на всех стадиях их развития на фоне депрессии показателей антипротеазного потенциала, особенно на 33-е сутки эксперимента – растет содержание азоальбумина на 107,2 % ($p < 0,05$), азоказеина – на 133,8 % ($p < 0,05$) и снижается концентрация α_2 -макроглобулина на 64,6 % ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Формирование бронхиальной астмы ведет к нарушению протеиназно-ингибиторной системы в легких, которое проявляется достоверным поэтапным ростом лизиса мелко и высокодисперсных белков в условиях компенсаторного повышения содержания α_2 -макроглобулина на 5-е сутки эксперимента с последующим их снижением. Наиболее заметные изменения протеиназно-ингибиторной системы наблюдались в поздний срок (33-и сутки) наблюдения – рост содержания азоальбумина на 85,9 %

($p < 0,05$), азоказеина – на 96,3 % ($p < 0,05$) и снижался уровень α_2 -макроглобулина на 48,5 % ($p < 0,05$) в легких относительно показателей контроля.

Выводы. В динамике развития экспериментальной БА отмечаются усиление протеазных реакций с начальной активизацией, а далее депрессией активности ингибиторной защиты, что свидетельствует о выраженном дисбалансе протеиназно-ингибиторной системы, начиная с раннего периода формирования этой патологии.

Ключевые слова: бронхиальная астма; азоальбумин; азоказеин; α_2 -макроглобулин.