

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики



Науково-практичний
медичний журнал
Запорізького державного
медичного університету

Видається з квітня 1997 року.
Виходить один раз на 4 місяці.
Свідоцтво про реєстрацію
КВ №21498-11298ПР
від 04.08.2015 р.
Передплатний індекс – 86298.

Атестований
як наукове фахове видання
України категорії «Б», в якому
можуть публікуватися результати
дисертаційних робіт доктора
філософії, доктора та кандидата наук.
Галузі знань – біологія (09),
охорона здоров'я (22).
Спеціальності: фармація,
промислова фармація – 226,
медицина – 222
(Наказ МОН України
№ 1301 від 15.10.2019 р.);
біологія – 91 (Наказ МОН України
№ 409 від 17.03.2020 р.);
фізична терапія, ерготерапія – 227
(Наказ МОН України
№ 886 від 02.07.2020 р.)

Журнал включений до міжнародних
наукометричних баз даних.
Статті рецензуються
за процедурою Double-blind.
Електронні копії опублікованих
статей передаються
до Національної бібліотеки
ім. Вернадського для вільного
доступу в режимі on-Line.

Ліцензія Creative Commons



Рекомендовано до друку
Вченою радою ЗДМУ
протокол № 12 від 23.06.2021 р.
Підписано до друку
29.06.2021 р.

Редакція:
Начальник редакційно-видавничого
відділу В.М. Миклашевський
Редактор О.С. Савеленко
Дизайн і верстка Ю.В. Полулан

Адреса редакції і видавця:
69035, Україна, м. Запоріжжя,
пр. Маяковського, 26, ЗДМУ,
e-mail: med.jur@zsmu.zp.ua
<http://pharmed.zsmu.edu.ua>

Віддруковано
у друкарні ТОВ «Х-ПРЕСС»
69068, м. Запоріжжя,
вул. Кругова, 165/18
e-mail: xpresszp@gmail.com
Свідоцтво про держреєстрацію
АОО №198468 від 01.07.1999 р.
Формат 60x841/8.
© Папір крейдяний, безкислотний,
Умов. друк. арк. 6.
Тираж 200 прим. Зам. № 6/21.

Том 14, № 2(36), травень – серпень 2021 р.

Редакційна колегія

Головний редактор –

д-р фарм. наук, проф. О. І. Панасенко

Заступники головного редактора –

д-р фарм. наук, проф. А. Г. Каплаушенко

д-р мед. наук, проф. С. Я. Доценко

Відповідальний секретар –

канд. хім. наук Ю. В. Карпенко

проф. К. В. Александрова (Запоріжжя)
проф. І. Ф. Бєленічев (Запоріжжя)
проф. І. В. Бушуєва (Запоріжжя)
проф. С. О. Васюк (Запоріжжя)
проф. В. А. Візір (Запоріжжя)
проф. О. В. Ганчева (Запоріжжя)
проф. В. В. Гладишев (Запоріжжя)
проф. А. М. Дашевський (Берлін, ФРН)
проф. Л. В. Деримедвідь (Харків)
чл.-кор. НАМН України, проф. Б. С. Зіменковський (Львів)
д-р фарм. наук Д. Г. Іванченко (Запоріжжя)
проф. С. І. Коваленко (Запоріжжя)
проф. М. Ю. Колесник (Запоріжжя)
проф. О. В. Мазулін (Запоріжжя)
проф. І. А. Мазур (Запоріжжя)
проф. Є. Л. Михалюк (Запоріжжя)
д-р фарм. наук Ігор Муха (Вроцлав, Польща)
академік НАМН України, чл.-кор. НАН України,
проф. О. С. Никоненко (Запоріжжя)
проф. В. М. Одинцова (Запоріжжя)
д-р мед. наук Джєннєро Паганє (Неаполь, Італія)
проф. З. Б. Сакіпова (Алмати, Республіка Казахстан)
проф. В. Д. Сиволап (Запоріжжя)
проф. Е. Л. Тарасявічюс (Каунас, Литовська Республіка)
д-р мед. наук Роланд Франкенбергер (Мемфіс, США)
проф. Клара Шєртаєва (Шимкєнт, Республіка Казахстан)

Editorial Board

Editor-in-Chief –

O. I. Panasenko, Ukraine

Deputy Editor-in-Chief –

A. H. Kaplaushenko, Ukraine

S. Ya. Dotsenko, Ukraine

Executive secretary –

Yu. V. Karpenko, Ukraine

K. V. Aleksandrova (Zaporizhzhia, Ukraine)
I. F. Bielenichev (Zaporizhzhia, Ukraine)
I. V. Bushuieva (Zaporizhzhia, Ukraine)
A. M. Dashevsky (Berlin, Germany)
L. V. Derymedvid (Kharkiv, Ukraine)
Roland Frankenberger (Memphis, USA)
O. V. Hancheva (Zaporizhzhia, Ukraine)
V. V. Hladyshev (Zaporizhzhia, Ukraine)
D. H. Ivanchenko (Zaporizhzhia, Ukraine)
M. Yu. Kolesnyk (Zaporizhzhia, Ukraine)
S. I. Kovalenko (Zaporizhzhia, Ukraine)
O. V. Mazulin (Zaporizhzhia, Ukraine)
I. A. Mazur (Zaporizhzhia, Ukraine)
Igor Mucha (Wroclaw, Poland)
Ye. L. Mykhaliuk (Zaporizhzhia, Ukraine)
O. S. Nykonenko (Zaporizhzhia, Ukraine)
V. M. Odyntsova (Zaporizhzhia, Ukraine)
Gennaro Pagano (Naple, Italy)
Z. B. Sakipova (Almaty, Kazakhstan)
Clara Shertaeva (Shymkent, Kazakhstan)
V. D. Syvolap (Zaporizhzhia, Ukraine)
E. L. Tarasiavichus (Kaunas, Lithuania)
S. O. Vasiuk (Zaporizhzhia, Ukraine)
V. A. Vizir (Zaporizhzhia, Ukraine)
B. S. Zimenkovskiy (Lviv, Ukraine)

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice

Volume 14 No. 2 May – August 2021

Scientific Medical Journal. Established in April 1997
Zaporizhzhia State Medical University

Submit papers are peer-reviewed

Maiakovskiy Avenue, 26,
Zaporizhzhia, 69035,
UKRAINE

e-mail: med.jur@zsmu.zp.ua
<http://pharmed.zsmu.edu.ua>

© Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики, 2021



ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Хільковець А. В.

Дослідження фізико-хімічних властивостей нових похідних 5-(тіофен-3-ілметил)-4R-1,2,4-тріазол-3-тіолів

Галстян А. Г., Бушуєв А. С.

Дослідження каталітичного окиснення 4-нітроетилбензену озonom до 4-нітроацетофенону – напівпродукту синтезу антибіотиків

Сафонов А. А., Носуленко І. С.

Антирадикальна активність нових похідних 4-аміно-5-(тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-тіолу

Бігдан О. А.

Аналіз залежності між прогнозованою біологічною активністю та хімічною структурою S-похідних 5-(5-бромфуран-2-іл)-4R-1,2,4-тріазол-3-тіолів

Карпенко Ю. В., Панасенко О. І.

Пошук антибактеріальної активності в ряду нових S-похідних (1,2,4-тріазол-3(2H)-іл)метил)тіопіримідинів

Панасенко О. І., Мозуль В. І., Денисенко О. М., Аксьонова І. І., Оберемко Т. В.

Хромато-мас-спектроскопічне дослідження хімічного складу маслинки вузьколистої *Elaeagnus angustifolia* L.

Стремоухов О. О., Кошовий О. М., Комісаренко М. А.

Дослідження біологічно активних речовин легкої фракції вегетативних органів лохини високорослої

Дейнека А. С., Процька В. В., Журавель І. О., Кисличенко О. А., Кузнєцова В. Ю.

Дослідження мінерального складу целозії гребінчастої

Одинцова В. М., Корнієвська В. Г., Малецький М. М., Корнієвський Ю. І.

Порівняльна характеристика настоек плодів деяких представників родини селерових

Стешенко Я. М., Мазулін О. В., Поліщук Н. М.

Дослідження антибактеріальної та фунгіцидної активності ефірної олії *Thymus x citriodorus* (Pers.) Schreb. var. «Silver Queen»

ORIGINAL RESEARCH

152 Khilkovets A. V.

Investigation of physical and chemical properties of new derivatives of 5-(thiophene-3-ylmethyl)-4R-1,2,4-triazole-3-thiols

157 Halstian A. H., Bushuiev A. S.

Investigation of catalytic oxidation of 4-nitroethylbenzene by ozone to 4-nitroacetophenone – an intermediate in the synthesis of antibiotics

162 Safonov A. A., Nosulenko I. S.

Antiradical activity of novel 4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazole-3-thiol derivatives

167 Bigdan O. A.

Analysis of the relationship between the predicted biological activity and the chemical structure of S-derivatives of 5-(5-bromofuran-2-yl)-4R-1,2,4-triazole-3-thiols

173 Karpenko Yu. V., Panasenko O. I.

Search for antibacterial activity in a number of new S-derivatives (1,2,4-triazole-3(2H)-yl)methyl)thiopyrimidines

179 Panasenko O. I., Mozul V. I., Denysenko O. M., Aksonova I. I., Oberemko T. V.

Chromato-mass-spectroscopic research of chemical composition of *Elaeagnus angustifolia* L.

185 Stremoukhov O. O., Koshovyi O. M., Komisarenko M. A.

Research in biologically active substances of the volatile fraction from Highbush blueberry vegetative organs

194 Deyneka A. S., Protska V. V., Zhuravel I. O., Kyslychenko O. A., Kuznietsova V. Yu.

The study in cockscomb mineral composition

200 Odyntsova V. M., Korniiievskaya V. H., Maletskyi M. M., Korniiievskiy Yu. I.

Comparative characteristics of fruit tinctures of some representatives of the family *Apiaceae*

211 Steshenko Ya. M., Mazulin O. V., Polishchuk N. M.

Study of the antimicrobial and fungicidal activity of the essential oil *Thymus x citriodorus* (Pers.) Schreb. var. «Silver Queen»



ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

**Маслов О. Ю., Колісник С. В.,
Комісаренко М. А., Алтухов О. О.,
Динник К. В., Степаненко В. І.**

Дослідження та оцінювання антиоксидантної активності дієтичних добавок з екстрактом зеленого чаю

Попко С. С., Євтушенко В. М.

Морфологічні особливості клітин гістогенного диферону сполучної тканини легень після сенсibiliзації овальбуміном

Лисенко В. А.

Чи існують переваги низьких доз ІАПФ, АМР, діуретиків і статинів під час лікування хронічної серцевої недостатності?

Бурлака Б. С., Бєленічев І. Ф.

Використання методів машинного навчання в розробленні назальних лікарських форм церебропротективної дії

**Авраменко М. О., Ткаченко Н. О.,
Рябокоть Ю. Ю., Бігдан О. А.**

Технології дистанційного навчання на післядипломному етапі професійного розвитку фахівців фармації

**Бушуєва І. В., Петрова К. В.,
Полова Ж. М.**

Деякі аспекти аналізу законодавства України, що регламентує виробництво ветеринарних лікарських засобів

Алексєєв О. Г.

Цивільна відповідальність у фармацевтичній сфері

**Зарічна Т. П., Британова Т. С., Райкова Т. С.,
Чорній Т. А.**

Дослідження етико-деонтологічних аспектів в аптечних закладах

ORIGINAL RESEARCH

**215 Maslov O. Yu., Kolisnyk S. V.,
Komisarenko M. A., Altukhov O. O., Dynnyk K. V.,
Stepanenko V. I.**

Study and evaluation antioxidant activity of dietary supplements with green tea extract

220 Popko S. S., Yevtushenko V. M.

Morphological features of histogenic differon cells in connective tissue of guinea pigs' lungs after sensitization with ovalbumin

226 Lysenko V. A.

Are there benefits of low doses of ACE inhibitors, MRAs, diuretics and statins in the treatment of heart failure?

232 Burlaka B. S., Bielenichev I. F.

The use of machine learning methods in the development of nasal dosage forms with cerebroprotective action

**239 Avramenko M. O., Tkachenko N. O.,
Riabokon Yu. Yu., Bigdan O. A.**

Distance learning technologies at the postgraduate stage of professional development of pharmacists

**245 Bushuieva I. V., Petrova K. V.,
Polova Zh. M.**

Some aspects of analysis of the Ukrainian legislation regulating the production of veterinary medicines

251 Aleksieiev O. H.

Civil liability in pharmacy

**259 Zarichna T. P., Brytanova T. S., Raikova T. S.,
Chornii T. A.**

Research of ethics and deontological aspects in pharmacies

Міжнародна індексація журналу / Indexing

Ulrich's Periodicals Directory (CША)

Worldcat (CША): http://www.worldcat.org/search?q=on%3ADGCNT+http%3A%2F%2Fjournals.urban.ua%2Findex.php%2Findex%2Foai+2306-8094+UANTU&fq=&dblist=638&qt=first_page

Index Copernicus: <http://www.journals.indexcopernicus.com/+++++,p5664,3.html>

BASE (Bielefeld Academic Search Engine): <http://www.base-search.net/Search/Results?lookfor=url%3Ahttp%3A%2F%2Fpharmed.zsmu.edu.ua%2F&type=all&ling=1&name=&thes=&refid=dcresen&newsearch=1>

Google Scholar (Академія): <https://scholar.google.com.ua/citations?user=4D2nRcgAAAAJ&hl=ru>

ROAD (Франція): http://road.issn.org/issn/2409-2932-aktual-ni-pitanna-farmacevni-noi-i-medi-noi-nauki-ta-praktiki#.VtbnPH2LQ_5

Publons: <https://publons.com/journal/35108/current-issues-in-pharmacy-and-medicine-science-an>

East View: <https://shop.eastview.com/results/item?SKU=5121515P>

eLibrary (РІНЦ): <http://elibrary.ru/contents.asp?titleid=38053>



Morphological features of histogenic differon cells in connective tissue of guinea pigs' lungs after sensitization with ovalbumin

S. S. Popko^{ID}*A,B,C,D, V. M. Yevtushenko^{E,F}

Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

A – research concept and design; B – collection and/or assembly of data; C – data analysis and interpretation; D – writing the article; E – critical revision of the article; F – final approval of the article

An urgent issue of modern morphology is establishing a number of patterns of morphological changes and reactivity of connective tissue components of lungs in case of experimental sensitization with allergens.

The aim is to estimate morphological features of histogenic differon cells in connective tissue of guinea pigs' lungs after sensitization with ovalbumin.

Materials and methods. Using morphometric and histological method, we have estimated the lung connective tissue of 48 male guinea pigs with experimental ovalbumin-induced allergic inflammation, simulated by subcutaneous sensitization and aeroallergization with ovalbumin. The number of fibrocytes, fibroblasts per 5000 μm^2 and their ratio – fibroblast/fibrocyte coefficient were determined.

Results. We have established the regularity of morphological changes dynamics in the cellular elements of pulmonary connective tissue. Experimental sensitization and inhaled allergization with ovalbumin leads to a statistically significant increase in the average number of fibroblasts and fibrocytes throughout the observation period in all experimental groups. It has been proved that the dynamics of cells has a multidirectional character, demonstrated by indicators of the fibroblast/fibrocyte coefficient, which shows the disproportion in the fibroblast/fibrocyte ratio and proves the tendency to the development of fibrosis in guinea pigs' pulmonary connective tissue in case of experimental sensitization with ovalbumin.

Conclusions. A gradual increase in the number of fibrocytes, against the background of a decrease in the number of fibroblasts is observed from the 23rd day to the completion of experimental sensitization with ovalbumin in the lungs of guinea pigs, compared with control group. A decrease of fibroblast/fibrocyte coefficient from 1.37 ± 0.03 in the early period to 0.82 ± 0.03 in the late period of the allergic inflammation demonstrates multidirectional nature of the dynamics in the number of connective tissue cells and indicates a tendency towards the development of fibrosis in pulmonary connective tissue.

Key words: guinea pigs, fibrocyte, fibroblasts, pulmonary connective tissue, experimental allergic inflammation, ovalbumin.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2021; 14 (2), 220–225

Морфологічні особливості клітин гістогенного диферону сполучної тканини легень після сенсibilізації овальбуміном

С. С. Попко, В. М. Євтушенко

Актуальною проблемою сучасної морфології є питання щодо встановлення низки закономірностей морфологічних змін і реактивності компонентів сполучної тканини легень при експериментальній сенсibilізації алергенами.

Мета роботи – з'ясувати морфологічні особливості клітин гістогенного диферону сполучної тканини легень морської свинки після сенсibilізації овальбуміном.

Матеріали та методи. Використовуючи морфометричний і гістологічний методи, дослідили сполучну тканину легень 48 самців морської свинки з експериментальним алергічним запаленням, змодельованим сенсibilізацією та аероалергізацією овальбуміном. Визначали середню кількість фіброцитів, фібробластів на умовну одиницю площі 5000 μm^2 та їхнє співвідношення – фібробластно-фіброцитарний коефіцієнт.

Результати. Встановили закономірність динаміки морфологічних змін клітинних елементів сполучної тканини легень. Експериментальна сенсibilізація та інгаляційна алергізація овальбуміном призводять до статистично значущого збільшення середньої кількості фібробластів і фіброцитів протягом усіх термінів спостереження в усіх експериментальних групах. Динаміка клітин має різноспрямований характер, що підтверджено показниками фібробластно-фіброцитарного коефіцієнта, які свідчать про диспропорційність у співвідношенні фіброласти/фіброцити, показують тенденцію до розвитку фіброзу та склеротичних процесів у сполучній тканині легень морських свинок під час експериментальної сенсibilізації овальбуміном.

ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/227582>

UDC 611.24-018.2:616-021.5-092.9].086
DOI: [10.14739/2409-2932.2021.2.227582](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2021.2.227582)

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2021; 14 (2), 220–225

Key words: guinea pigs, fibrocyte, fibroblasts, pulmonary connective tissue, experimental allergic inflammation, ovalbumin.

*E-mail: kuchkosv@gmail.com

Received: 25.03.2021 // Revised: 19.04.2021 // Accepted: 27.04.2021

Висновки. Від 23 до 44 доби після початку експериментальної сенсibiliзації овальбуміном у легенях морських свинок порівняно з контролем спостерігали поступове збільшення середньої кількості фіброцитів, але зменшення середньої кількості фібробластів. Різносторонній характер у динаміці кількості клітин сполучної тканини показує зменшення показника фібробластно-фіброцитарного коефіцієнта від $1,37 \pm 0,03$ в ранньому періоді до $0,82 \pm 0,03$ в пізньому періоді розвитку алергічного запалення, що свідчить про тенденцію до розвитку фіброзу в сполучній тканині легень морської свинки.

Ключові слова: морська свинка, фіброцит, фібробласт, сполучна тканина легень, експериментальне алергічне запалення, овальбумін.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2021. Т. 14, № 2(36). С. 220–225

Морфологические особенности клеток гистогенного дифферона соединительной ткани лёгких после сенсibiliзации овальбумином

С. С. Попко, В. М. Евтушенко

Актуальная проблема современной морфологии – вопрос об установлении ряда закономерностей морфологических изменений и реактивности компонентов соединительной ткани лёгких при экспериментальной сенсibiliзации аллергенами.

Цель работы – установить морфологические особенности клеток гистогенного дифферона соединительной ткани лёгких морских свинок после сенсibiliзации овальбумином.

Материалы и методы. Используя морфометрический и гистологический методы, исследовали соединительную ткань лёгких 48 самцов морской свинки с экспериментальным аллергическим воспалением, смоделированным сенсibiliзацией и аэроаллергизацией овальбумином. Определяли среднее количество фиброцитов, фибробластов на условную единицу площади 5000 мкм² и их соотношение – фибробластно-фиброцитарный коэффициент.

Результаты. Установлена закономерность динамики морфологических изменений клеточных элементов соединительной ткани лёгких. Экспериментальная сенсibiliзация и ингаляционная аллергизация овальбумином приводят к статистически значимому увеличению среднего количества фибробластов и фиброцитов на протяжении всех сроков наблюдения во всех экспериментальных группах. Динамика клеток имеет разнонаправленный характер, который отражают показатели фибробластно-фиброцитарного коэффициента, свидетельствующие о диспропорции в соотношении фибробласты/фиброциты и являющиеся подтверждением тенденции к развитию фиброза и склеротических процессов в соединительной ткани лёгких морских свинок при экспериментальной сенсibiliзации овальбумином.

Выводы. С 23 по 44 сутки после начала экспериментальной сенсibiliзации овальбумином в лёгких морских свинок по сравнению с контролем отмечено постепенное увеличение среднего количества фиброцитов, но уменьшение среднего количества фибробластов. Уменьшение показателя фибробластно-фиброцитарного коэффициента с $1,37 \pm 0,03$ в раннем периоде до $0,82 \pm 0,03$ отражает разнонаправленный характер в динамике количества клеток соединительной ткани в позднем периоде развития аллергического воспаления, свидетельствует о тенденции к развитию фиброза в соединительной ткани лёгких морских свинок.

Ключевые слова: морская свинка, фиброцит, фибробласт, соединительная ткань лёгких, экспериментальное аллергическое воспаление, овальбумин.

Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики. 2021. Т. 14, № 2(36). С. 220–225

The variety of connective tissue functions, such as morphogenetic, reparative, biomechanical, metabolic reflects a wide range of its morphological adaptive changes in response to various factors, including allergenic ones [1,2]. Airway hyperreactivity develops as a result of allergic airway inflammation in case of experimental sensitization with ovalbumin [3]. Asthma pathogenesis is represented as a multiple process in which nonspecific and specific immune and neuroendocrine points are involved. Interactions between them lead to the development of asthma hallmarks – inflammatory process and as its result – airway remodeling [4–6]. A specific sign of connective tissue reaction in response to the action of an allergen as a result of the development of allergic inflammation is subepithelial fibrosis in airways [7]. The thickened basal lamina of the airway epithelium and the connective tissue of their respiratory mucosa contain an increased number of collagens types I, III and V, fibronectin and tenascin, which is a pathognomonic point of allergic inflammation and is not observed in case

of other inflammatory diseases of the respiratory system [7,8]. The appearance and accumulation of deposits from glycosaminoglycans and collagen in the ground substance of extracellular matrix of connective tissue is associated with fibroblasts' or myofibroblasts' secretory function. The latter originate from resident cells of pulmonary connective tissue, such as fibroblasts and myocytes [8,9]. The mechanisms of differentiation of fibroblasts and myocytes into myofibroblasts, actively synthesized collagen types I, III, V in case of allergic inflammation, are currently being actively investigated by scientists [10,11]. However, morphological changes in the cellular component of the connective tissue of airways and lungs, experimentally sensitized, have not been sufficiently studied in the chronobiological aspect.

Aim

To estimate morphological features of histogenic differon cells in connective tissue of guinea pigs' lungs after sensitization with ovalbumin.

Materials and research methods

The experiment was performed on 48 male guinea pigs weighing 450–600 g, which were housed under standard environmental conditions in the animal facility of Zaporizhzhia State Medical University. All experimental procedures and the animal care were carried out according to ethical guidelines (Strasbourg, 1986; Kyiv, 2001).

Experimental model of allergic airway disease. Allergic airway inflammation was induced as previously described [12]. Guinea pigs received three subcutaneous injections and eight inhalations with ovalbumin (OVA) (Sigma Aldrich, USA). We use alum (10 mg/mL in saline) as an adjuvant (AlumVax Hydroxide vaccine adjuvant, OZ Biosciences France) with OVA injections to counteract tolerance.

Experimental design. We use six groups of guinea pigs in the experimental protocol (8 guinea pigs each). Animals of the first four groups with asthma model were euthanized with an overdose of thiopental (50 mg/kg) on the 23rd, 30th, 36th and 44th days of the experiment respectively; control guinea pigs of group 5 were administered with equivalent amount of saline; group 6 was intact. We subdivided the experiment to the early (23rd, 30th days of the experiment) and late (36th and 44th days of the experiment) periods of the pulmonary allergic inflammatory process. Paraffin sections of guinea pigs' lungs were stained by the method of Mason to estimate the number and distribution of collagen fibers, alcian blue with a critical concentration of MgCl₂ 0.2 M to determine the dynamic of glycosaminoglycans distribution and morphometric evaluation of histogenic differon cells of connective tissue [13]. The sections were examined by light microscope (Primo Star, Zeiss, Germany). We counted the number of fibrocytes and fibroblasts per 5000 μm² in 10 fields of lung strip in each animal and their fibroblast/fibrocyte ratio coefficient. Fibroblasts and fibrocytes were identified and differentiated by their morphological points at the light-optical level. Fibroblasts are large polygonal cells up to 50 μm in size with rounded or oval euchromatic nucleus, have processes. Fibrocytes are spindle-shaped cells with the large, identical-shaped, dense nucleus, little volume of cytoplasm and long processes.

Statistical analysis was performed using Microsoft Excel and Statistica for Windows 13 (StatSoft Inc., № JPZ804I382130ARCN10-J). Data were evaluated by Shapiro–Wilk test and the Kolmogorov–Smirnov test. Values are expressed as means $M \pm m$. Multiple comparisons were made using the parametric Student's *t*-test (P^*) and the nonparametric U-Whitney–Mann test (P^{**}). The obtained data were compared between the median and interquartile range $Me (Q_1; Q_3)$. P value of <0.05 was considered significant.

Results

Morphological evaluation of guinea pigs' lungs after experimental sensitization with ovalbumin reveals reactive morphological changes in the connective tissue of airways and pulmonary interstitium. There is edema and disorganization

of collagen fibers and changes in the tinctorial properties of the ground substance, such as more intensive metachromatic staining, compared to the control group. Along with this, we observe a reaction from the fibroblastic elements of the connective tissue of lung. Some of the fibroblasts increase in size, the cytoplasm acquires a more pronounced basophilia. Some cells divide mitotically. In addition, in case of ovalbumin sensitization, intense diffuse and focal perivascular and peribronchial infiltration by lymphocytes is observed (*Fig 1*).

Morphometric assessment of diffusely located histogenic differon cells of connective tissue in lungs of intact group guinea pigs has shown that their average number was as follows: fibrocytes 6.50 ± 0.24 , fibroblasts 7.50 ± 0.16 , fibroblast/fibrocyte coefficient 1.46 ± 0.06 . We have not found statistically significant difference in the number of cells between control and intact groups ($P^{*/**} > 0.05$), indicated that the procedure has not influenced changes in data content from connective tissue cells. Therefore, we compare results of the experimental and control groups in further observation.

The number of fibrocytes and fibroblasts in the connective tissue of guinea pigs' lungs changes after sensitization and inhalation with ovalbumin. Analysis of the average number of fibrocytes in the early period of allergic inflammatory process in the lungs reveals that their number increases statistically significantly compared to the control group since the 23rd day after the experiment and is 9.5 ± 0.09 in the field of view, which is 1.7 times more than in the control group (*Fig. 2*). We have declared a tendency to an increase in the number of fibrocytes on the 30th day of the experiment in the 2nd experimental group. There is also a statistically significant difference between the average number of fibrocytes in animals of the control group and after sensitization with ovalbumin, observed in the late period of the experiment (36th and 44th days) in animals of 3rd and 4th experimental groups. Thus, on the 36th day after the start of the experiment, the average number of fibrocytes is 12.88 ± 0.15 in the field of view, the coefficient of increase is 2, compared to the control group. On the 44th day of observation, the maximum value of the average number of fibrocytes reaches 13.38 ± 0.14 in the field of view. The maximum coefficient of increase (2.3) is observed in the 4th experimental group, compared to the control group (*Fig. 4*).

Analyzing the number of connective tissue fibroblasts in guinea pigs' lungs in the early period of allergic inflammation, we have found that their number increases statistically significantly ($P^{*/**} < 0.05$) from the 23rd day of the experiment (12.75 ± 0.21 in the field of view), compared to the control group (*Fig. 3*). The maximum coefficient of increase in the average number of fibroblasts compared to the control group is 1.8 and is observed on the 23rd day of the experiment in the 1st experimental group. Fibroblast/fibrocyte coefficient is 1.37 ± 0.03 in the 1st experimental group, which is slightly less than the same indicator in the control group. We have reported the tendency to increase of the number of fibroblasts on the 30th day of the experiment in the 2nd experimental group. The fibroblast-fibrocyte

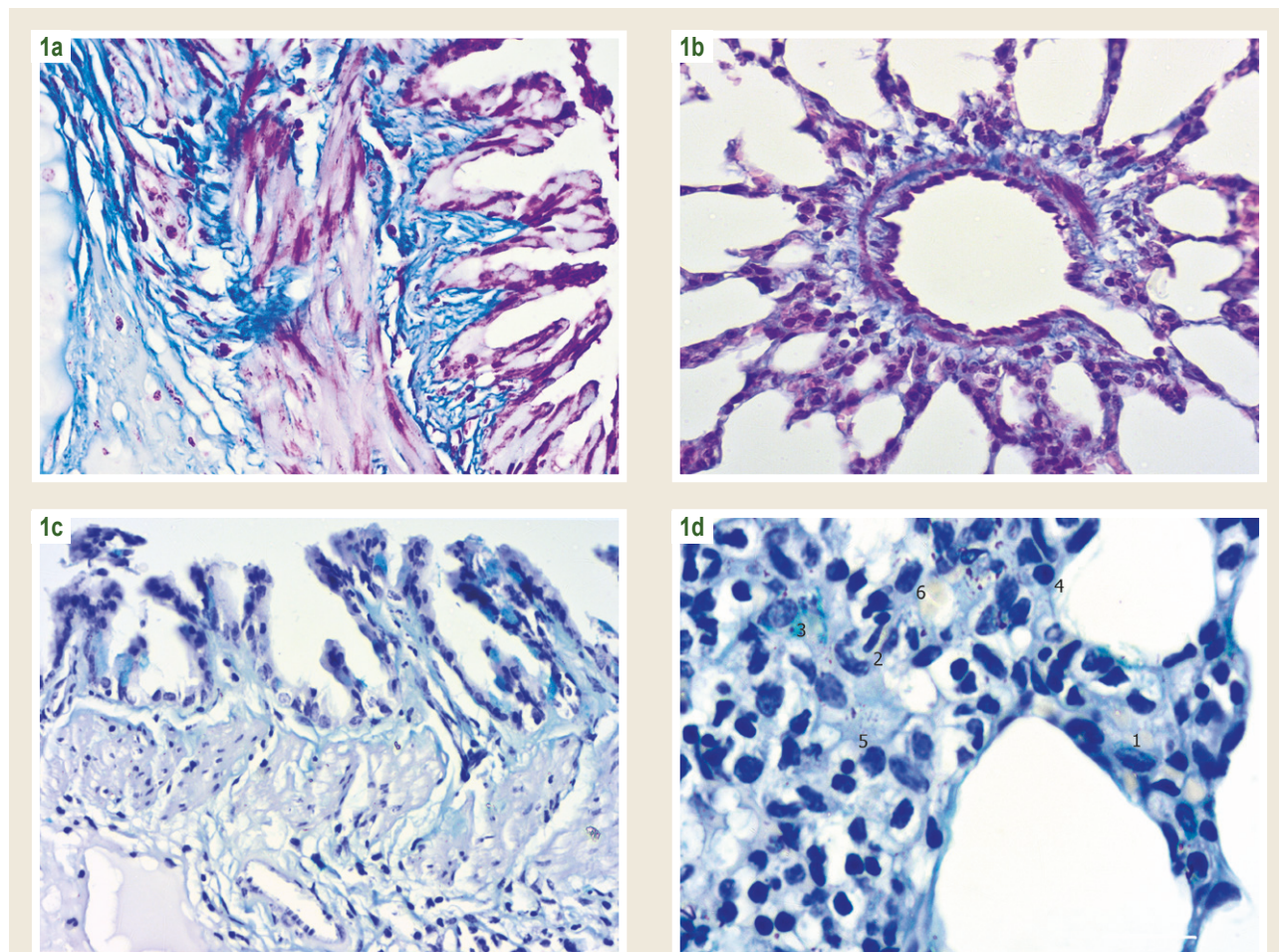


Fig. 1. Microscopic changes of connective tissue elements of the airways and pulmonary interstitium of guinea pigs after sensitization and challenging with ovalbumin on the 30th (1a, 1b), 36th (1c), 44th (1d) days after the start of experiment. **1a, 1b:** edema and disorganization of collagen fibers of connective tissue in the bronchial wall (**1a**), uneven thickening of the subepithelial layer in terminal bronchiole (**1b**). **1c:** more intensive metachromatic staining of the ground substance of connective tissue in the bronchial wall; **1d:** connective tissue cells in lung: **1** – fibroblast; **2** – fibrocyte; **3** – mast cell; **4** – lymphocyte; **5** – macrophage; **6** – plasma cell. Staining: **1a, 1b** – Mason staining; **1c, 1d** – alcian blue. **1a, 1b, 1c** × 400; **1d** × 1000.

coefficient in the 2nd experimental group is 1.30 ± 0.04 (Fig. 4).

The statistically significant difference in the average number of fibroblasts compared to similar indicators in animals of the control group is also observed in the late period of allergic inflammatory process in lung (36th and 44th day after the start of the experiment) in animals of the 3rd and 4th experimental groups. On the 36th day after the start of the experiment, the average number of fibroblasts is 10.38 ± 0.27 in the field of view, the magnification factor is 1.5, compared to the control group. The tendency to gradually significant decrease of the number of fibroblasts is shown with increasing experiment time. Fibroblast/fibrocyte coefficient decreases statistically significantly in 1.8 times in the late period of development of allergic inflammatory process in lung, compared to the similar indicator in the control group.

Discussion

Thus, our study determines the pattern of dynamics of morphological changes in the cellular elements of

the respiratory connective tissue. Experimental sensitization and challenging with ovalbumin leads to a statistically significant increase in the average number of fibroblasts and fibrocytes during all observation periods in all experimental groups. The multidirectional nature of their dynamics attracts attention. The maximum number of fibroblasts occurs during the first period of pulmonary allergic inflammation on the 23rd day of observation, after which there is a tendency to gradually reduce their content to the 44th day of the experiment. In contrast to the dynamics of fibroblasts, the average content of fibrocytes gradually increases during the experiment, with the maximum coefficient of increase on the 44th day. This multidirectional nature of cell dynamics reflects the fibroblast/fibrocyte coefficient, during the experiment, indicated a disproportion in the fibroblast – fibrocyte ratio, especially in the late period of allergic inflammation. The latter fact is a confirmation of the tendency to the development of fibrosis and sclerotic processes in connective tissue of guinea pigs' lungs during experimental sensitization with ovalbumin.

Our morphological observation of guinea pigs' lung connective tissue cells in general confirmed with previous studies. Previously reported persistently elevated number of fibrocytes in bronchial mucosa is observed in chronically undertreated or corticosteroid-resistant asthma and are associated with persistent airway inflammation and connective tissue remodeling of the bronchial wall [10]. The asthmatic bronchial epithelium is predominant source of fibrocyte chemoattractants in asthma and contributes with T helper type 2 lymphocytes and eosinophils to promote the proliferation and remodeling function of recruited fibrocytes. The presence of elevated numbers of fibrocytes in the bronchial mucosa of allergic patients may also increase the risk of acute exacerbations because these cells can amplify T helper type 2 inflammation to the clinically relevant allergen and can promote further inflammation [4,14,15]. Several studies have revealed subepithelial fibrosis, primarily mediated by submucosal resident fibroblasts proliferated and differentiated into myofibroblasts [9,10]. However, authors have shown that oncostatin M-induced products of connective tissue cells, such as monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1), IL-6, and PGE2 can modulate macrophage function, including the expression of oncostatin M produced by macrophages and neutrophils, indicating feedback loops characterized macrophage and connective tissue cell interaction in extracellular matrix remodeling and allergic inflammation [16]. Oncostatin M receptor (OSMR β chains) is expressed by pulmonary connective tissue fibroblasts and bronchial smooth muscle cells. Scientists have associated lung extracellular matrix hyperproduction with defective epithelial – connective tissue crosstalk during allergic inflammation, suggesting the aberrant activation of the asthmatic epithelial-mesenchymal trophic unit (EMTU) may lead to disease pathogenesis [14]. A similar trend has been recently showed in studies of other scientists [9,17].

In conclusion, our results may become a part of the foundation for the further investigation of morphological basis of mechanisms of epithelial neuroendocrine – immune interaction in the animal models of widespread diseases.

Conclusions

1. There is a gradual increase in the average number of fibrocytes (respectively 9.50 ± 0.09 in the 1st experimental group to 13.38 ± 0.14 in the 4th experimental group) and a decrease in the average number of fibroblasts (12.75 ± 0.21 in the 1st experimental group to 10.37 ± 0.27 in the 4th experimental group) from the 23rd to the 44th day after the start of experimental sensitization with ovalbumin in guinea pigs' lungs.

2. A decrease of the fibroblast/fibrocyte coefficient from 1.37 ± 0.03 in the early period to 0.82 ± 0.03 reflects a divergent nature in the dynamics of the number of connective tissue cells in the late period of allergic inflammation, indicated a tendency of development of fibrosis in the connective tissue of guinea pigs' lungs.

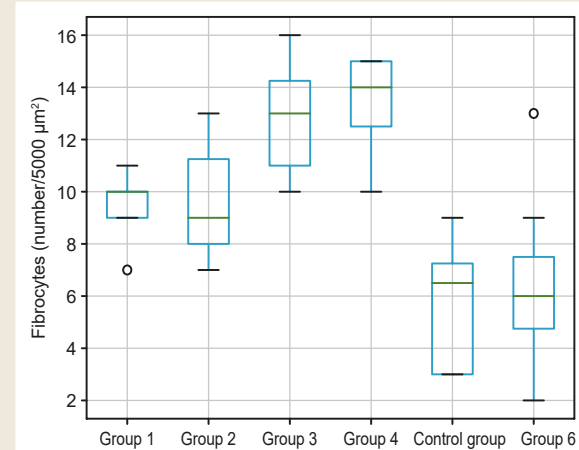


Fig. 2. Morphometric changes in the number of fibrocytes in the connective tissue of guinea pigs' lungs. *: $P < 0.05$ (Student's t-test); **: $P < 0.05$ (Whitney–Mann U-test) compared to the control, Me (Q₁; Q₃), $M \pm m$ ($n = 8$).

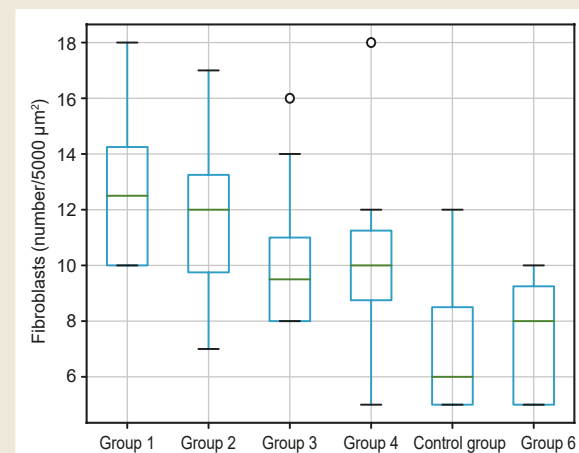


Fig. 3. Morphometric changes in the number of fibroblasts in the connective tissue of guinea pigs' lungs. *: $P < 0.05$ (Student's t-test); **: $P < 0.05$ (Whitney–Mann U-test), compared to the control, Me (Q₁; Q₃), $M \pm m$ ($n = 8$).

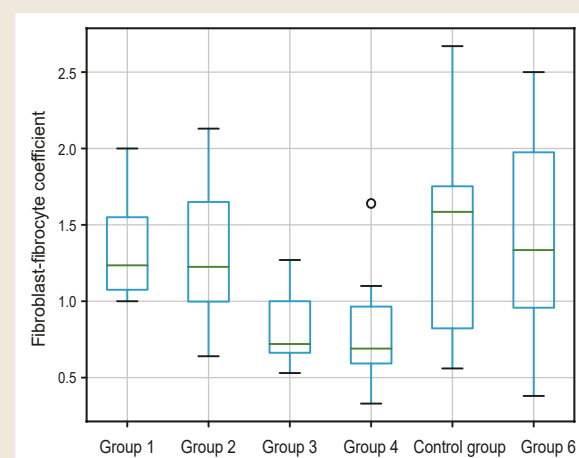


Fig. 4. Dynamics of fibroblast/fibrocyte coefficient. *: $P < 0.05$ (Student's t-test); **: $P < 0.05$ (Whitney–Mann U-test) comparing to the control group, Me (Q₁; Q₃), $M \pm m$ ($n = 8$).

Prospects for further research. We are planning to study the components of ground substance of extracellular matrix and ultramicroscopic changes in the connective tissue cells of guinea pigs' lung in case of experimental sensitization with ovalbumin.

Funding

This research is a part of the research work of Zaporizhzhia State Medical University "Immunomorphological characteristics of internal organs under the influence of endo- and exogenous factors on the body", state registration No. 0118U004250.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.
Конфлікт інтересів: відсутній.

Information about authors:

Popko S. S., PhD, Associate Professor of the Department of Histology, Cytology and Embryology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine. ORCID ID: [0000-0002-5533-4556](https://orcid.org/0000-0002-5533-4556)

Yevtushenko V. M., PhD, DSc, Professor of the Department of Histology, Cytology and Embryology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Відомості про авторів:

Попко С. С., канд. мед. наук, доцент каф. гістології, цитології та ембріології, Запорізький державний медичний університет, Україна.
Євтушенко В. М., д-р мед. наук, професор каф. гістології, цитології та ембріології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Попко С. С., канд. мед. наук, доцент каф. гистологии, цитологии и эмбриологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Евтушенко В. М., д-р мед. наук, профессор каф. гистологии, цитологии и эмбриологии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

References

- [1] Ito, J. T., Lourenço, J. D., Righetti, R. F., Tibério, I., Prado, C. M., & Lopes, F. (2019). Extracellular Matrix Component Remodeling in Respiratory Diseases: What Has Been Found in Clinical and Experimental Studies?. *Cells*, 8(4), 342. <https://doi.org/10.3390/cells8040342>
- [2] Akdis, C. A., Arkwright, P. D., Brügggen, M. C., Busse, W., Gadina, M., Guttman-Yassky, E., Kabashima, K., Mitamura, Y., Vian, L., Wu, J., & Palomares, O. (2020). Type 2 immunity in the skin and lungs. *Allergy*, 75(7), 1582-1605. <https://doi.org/10.1111/all.14318>
- [3] Kiboneka, A., & Kibuule, D. (2019). The immunology of asthma and allergic rhinitis. *Rhinosinusitis*, 12, 77. <https://doi.org/10.5772/intechopen.86964>
- [4] Klose, C. S., & Artis, D. (2016). Innate lymphoid cells as regulators of immunity, inflammation and tissue homeostasis. *Nature immunology*, 17(7), 765-774. <https://doi.org/10.1038/ni.3489>
- [5] Molofsky, A. B., Savage, A. K., & Locksley, R. M. (2015). Interleukin-33 in Tissue Homeostasis, Injury, and Inflammation. *Immunity*, 42(6), 1005-1019. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2015.06.006>
- [6] Popko, S. S., Yevtushenko, V. M., & Syrtsov, V. K. (2020). Influence of pulmonary neuroendocrine cells on lung homeostasis. *Zaporozhye medical journal*, 22(4), 568-574. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.4.208411>
- [7] Liu, L., Stephens, B., Bergman, M., May, A., & Chiang, T. (2021). Role of Collagen in Airway Mechanics. *Bioengineering*, 8(1), 13. <https://doi.org/10.3390/bioengineering8010013>
- [8] Bellini, A., Schmidt, M., & Mattoli, S. (2013). Interactions between the Bronchial Epithelium and Fibrocytes in the Pathogenesis of Airway Remodeling in Asthma. *Journal of Epithelial Biology & Pharmacology*, 6, 1-10. <https://doi.org/10.2174/1875044301306010001>
- [9] Michalik, M., Wójcik-Pszczola, K., Paw, M., Wnuk, D., Koczurkiewicz, P., Sanak, M., Pękala, E., & Madeja, Z. (2018). Fibroblast-to-myofibroblast transition in bronchial asthma. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*, 75(21), 3943-3961. <https://doi.org/10.1007/s00018-018-2899-4>
- [10] Mattoli, S. (2015). Involvement of fibrocytes in asthma and clinical implications. *Clinical and experimental allergy*, 45(10), 1497-1509. <https://doi.org/10.1111/cea.12525>
- [11] Banno, A., Reddy, A. T., Lakshmi, S. P., & Reddy, R. C. (2020). Bidirectional interaction of airway epithelial remodeling and inflammation in asthma. *Clinical science*, 134(9), 1063-1079. <https://doi.org/10.1042/CS20191309>
- [12] Popko, S. S. Morphological rearrangement of the metabolic link of the microcirculatory bed of guinea pigs lungs after sensitization with ovalbumin. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*, 14(1), 79-83. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2021.1.226851>
- [13] Dey, P. (2018). *Basic and Advanced Laboratory Techniques in Histopathology and Cytology*. Boston, MA: Springer. <https://doi.org/10.1007/978-981-10-8252-8>
- [14] Osei, E. T., Booth, S., & Hackett, T. L. (2020). What Have In Vitro Co-Culture Models Taught Us about the Contribution of Epithelial-Mesenchymal Interactions to Airway Inflammation and Remodeling in Asthma?. *Cells*, 9(7), 1694. <https://doi.org/10.3390/cells9071694>
- [15] VanHook, A. M. (2020). Epithelial damage triggers allergic inflammation. *Science Signaling*, 13(623), eabb6894. <https://doi.org/10.1126/scisignal.abb6894>
- [16] Richards, C. D., & Botelho, F. (2019). Oncostatin M in the Regulation of Connective Tissue Cells and Macrophages in Pulmonary Disease. *Biomedicines*, 7(4), 95. <https://doi.org/10.3390/biomedicines7040095>
- [17] Hough, K. P., Curtiss, M. L., Blain, T. J., Liu, R. -M., Trevor, J., Deshane, J. S., & Thannickal, V. J. (2020). Airway Remodeling in Asthma. *Frontiers in Medicine*, 7, 191. <https://doi.org/10.3389/fmed.2020.00191>