

**Міністерство охорони здоров'я України
Запорізький державний медичний університет**

Факультет 2 медичний

УДК 611.2+612.211]-002.1-092.9

Дар'я Олександрівна Трасковська

Група 2 мл

**Морфологічні маркери гострого алергічного запалення дихальних шляхів в
експерименті**

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА МАГІСТРА

зі спеціальності

224 «Технології медичної діагностики та лікування»

Галузь знань 22 «Охорона здоров'я»

Освітня програма «Лабораторна діагностика»

Науковий керівник:

кандидат медичних наук

доцент кафедри гістології, цитології

та ембріології

Світлана Сергіївна Попко

Запоріжжя 2023 р.

Міністерство охорони здоров'я України
Запорізький державний медичний університет

Факультет 2 медичний
Кафедра гістології, цитології та ембріології
Галузь знань 22 «Охорона здоров'я»
Спеціальність 224 «Технології медичної діагностики та лікування»
Освітня програма «Лабораторна діагностика»
Освітня програма вищої освіти України Другий магістерський рівень
Кваліфікація освіти, що присвоюється Магістр

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
на тему

Морфологічні маркери гострого алергічного запалення дихальних шляхів в експерименті

Студент Трасковська Д. О. Група ЛД-21/1,5-2
(прізвище, ім'я, по батькові) (номер групи)

КЕРІВНИК РОБОТИ Доц. каф. гістології, цитології та ембріології
кандидат медичних наук
(Посада, науковий ступінь, вчене звання)

Попко Світлана Сергіївна _____
(прізвище, ім'я, по батькові) (підпис)

РЕЦЕНЗЕНТ Зав. каф. медичної біології, паразитології та генетики, доцент,
доктор біологічних наук
(Посада, науковий ступінь, вчене звання)

Приходько Олександр Борисович _____
(прізвище, ім'я, по батькові) (підпис)

Робота розглянута на засіданні кафедри (протокол від „15” грудня 2022 р. № 5) і допущена до захисту.

В.О. ЗАВІДУВАЧА КАФЕДРИ Доцент, кандидат біологічних наук
(Посада, науковий ступінь, вчене звання)

Потоцька Олена Іванівна _____
(прізвище, ім'я, по батькові) (підпис)

Запоріжжя 2023 р.

РЕФЕРАТ

Магістерська робота: 63 с., 10 рис., 5 табл., 42 джерела.

Актуальність роботи. Розповсюдженість бронхіальної астми зростає у всьому світі. В Україні за останні 10 років рівень захворюваності на бронхіальну астму виріс у 3 рази, що мотивовано забрудненням довкілля, збільшенням алергізації населення, погіршенням генофонду нації. Причому збільшується питома вага важких форм (зокрема серед осіб молодого віку), більша частина хворих негайно госпіталізуються до стаціонарів. Із цим пов'язана висока інвалідність і летальність хворих на бронхіальну астму. Враховуючи відомі на сьогоднішній день механізми етіології та патогенезу алергічного запального процесу дихальних шляхів, залишаються недостатньо вивченими морфологічні маркери протягом раннього та пізнього періодів при алергічному запальному процесі.

Мета. Встановити основні морфологічні зміни легень морських свинок при гострому алергічному запаленні в експерименті.

Задачі:

1. З'ясувати топографічні особливості розподілу та динаміки кількості еозинофільних гранулоцитів в легенях морських свинок, сенсibilізованих овальбуміном.

2. Встановити морфологічні зміни, які відбуваються в оболонках стінки бронхів малого калібру, а також в термінальних бронхіолах морських свинок, сенсibilізованих овальбуміном.

3. Визначити морфологічні зміни компонентів аерогематичного бар'єру і респіраторного відділу легень морських свинок після сенсibilізації овальбуміном.

Методи дослідження: експериментальний, гістологічний, морфометричний, електронномікроскопічний, статистичний.

Одержані результати та їх новизна. В експериментальній моделі овальбумін-індукованого алергічного запалення дихальних шляхів морських

свинок на тлі зростання кількості та підвищення активності еозинофільних гранулоцитів ми встановили морфологічні зміни в стінці малих бронхів і термінальних бронхіол, а також в респіраторному відділі легень. Про розвиток еозинофільного запального процесу свідчать наявність субмікроскопічних ознак часткової дегрануляції (англ. piecemeal degranulation (PMD) еозинофільних гранулоцитів, виявлені переважно протягом ранніх термінів спостереження та морфометричні показники зростання їх середньої кількості. Морфологічні зміни у вигляді зменшення діаметру просвіту малих бронхів і термінальних бронхіол свідчать про гіперплазію та гіперреактивність їх гладком'язового компоненту. Нами виявлений факт потоншення дихальної слизової оболонки малих бронхів в ранньому періоді розвитку алергічного запального процесу в легенях на 23-тю і 30-ту доби спостереження за рахунок десквамації епітелію. Одночасно при цьому в 1-ій та 2-ій експериментальних групах спостерігається потовщення спіральної м'язової оболонки бронхів відповідно в 1,2 і в 1,4 рази, порівняно з контролем ($p^{***} < 0,05$).

У роботі встановлені морфологічні зміни компонентів респіраторного відділу легень, в тому числі аеро-гематичного бар'єру, а також підвищення активності і кількості коміркових макрофагоцитів. На підставі отриманих даних встановлено, що сенсibilізація овальбуміном призводить до порушення аеро-гематичного бар'єру, про що свідчить факт десквамації коміркового епітелію, вогнищевого оголення основної пластинки, потовщення міжмембранного простору, набряку цитоплазми ендотеліоцитів з дезорганізацією його мікрофіламентів. Виявлені зміни є альтеративно-деструктивними і переважають впродовж ранніх стадій розвитку запального процесу. В пізні стадії переважали адаптаційно-відновні зміни, що супроводжувались потоншенням міжкоміркових перегородок і водночас розширенням легеневих комірок, які свідчать про тенденцію розвитку емфізематозного ураження легень.

Результати досліджень можуть бути застосовані при подальших експериментальних дослідженнях, у практичній та науковій роботі морфологічних та імунологічних лабораторій.

Перелік ключових слів: ЛЕГЕНІ, ОВАЛЬБУМІН, МОРСЬКА СВИНКА, АЛЕРГІЧНЕ ЗАПАЛЕННЯ, ЕОЗИНОФІЛ, АЕРО-ГЕМАТИЧНИЙ БАР'ЄР.

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ,
СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ**

БА	– бронхіальна астма
ГМЦР	– гемомікроциркуляторне русло
КМ	– комірковий макрофагоцит
КЕ	– комірковий епітелій
ОВА	– овальбумін
ССSP	– маркер бронхіолярних екзокриноцитів дихальних шляхів
Foxp3	– фактор транскрипції, який спрямовує диференціювання Т-лімфоцитів у напрямку Treg
TSLP	– тимічний стромальний лімфопоетин

ЗМІСТ

Перелік умовних позначень, символів, скорочень і термінів	6 стор.
Вступ	8 стор.
Розділ 1 Огляд літератури	10 стор.
Розділ 2 Матеріали та методи дослідження	16 стор.
Розділ 3 Морфологічні зміни стінки дихальних шляхів морських свинок в динаміці овальбумін-індукованого алергічного запалення	20 стор.
3.1 Морфологічні зміни еозинофільних гранулицитів легень морських свинок сенсibiliзованих овальбуміном	20 стор.
3.2 Морфологічні особливості бронхів малого калібру і термінальних бронхіол морських свинок при алергічному запаленні	27 стор.
3.3 Морфологічні зміни компонентів аеро-гематичного бар'єру і респіраторного відділу легень морських свинок після сенсibiliзації овальбуміном	42 стор.
Розділ 4 Аналіз та узагальнення отриманих результатів	50 стор.
Висновки	56 стор.
Список використаних джерел	58 стор.

ВСТУП

На сучасному етапі спостерігається невідоме зростання захворюваності на БА в Україні та світі, що мотивовано забрудненням довкілля, збільшенням алергізації населення, погіршенням генофонду нації. У 2021 році спостерігалось зростання захворюваності бронхіальною астмою у порівнянні з 2019 роком на 24,8%, або зростання з 7934 до 10514 на 100 тис. дорослого населення. Найвища захворюваність бронхіальною астмою в Україні, яка перевищує середньостатистичний показник в Україні (30,2 на 100 тис. дорослого населення (18-100 років) спостерігалася у Дніпропетровській – 58,6; Харківській – 55,0; Рівненській – 38,7; Запорізькій – 37,7; Херсонській – 36,9 та Чернігівській – 38,7 областях [1, 3, 12].

Одним із недостатньо досліджених явищ у вивченні морфологічних змін при хронічних алергічних захворюваннях дихальної системи вважають участь компонентів неспецифічного імунного захисту, проблеми проліферації та регенерації бронхіального дерева, реакцію елементів респіраторного відділу легень (аеро-гематичний бар'єр, коміркові макрофагоцити, альвеолоцити 1 та 2 типу, сурфактант) [18, 19, 21]. Враховуючи вище наведене, доповнення сучасних наукових даних щодо морфологічних маркерів алергічного запального процесу легень в хронобіологічному аспекті при алергічному запаленні є актуальною проблемою медицини.

Мета дослідження – встановити основні морфологічні зміни легень морських свинок при гострому алергічному запаленні в експерименті.

Досягнення поставленої мети здійснювали шляхом вирішення наступних завдань:

1. З'ясувати топографічні особливості розподілу та динаміки кількості еозинофільних гранулоцитів в легнях морських свинок, сенсibilізованих овальбуміном.

2. Встановити морфологічні зміни, які відбуваються в оболонках стінки бронхів малого калібру, а також в термінальних бронхіолах морських свинок, сенсibilізованих овальбуміном.

3. Визначити морфологічні зміни компонентів аерогематичного бар'єру і респіраторного відділу легень морських свинок після сенсibilізації овальбуміном.

Об'єкт дослідження – морфогенез легень морської свинки в нормі та за умов сенсibilізації овальбуміном.

Предмет дослідження – структура стінки бронхів і респіраторного відділу легень морської свинки в нормі та за умов сенсibilізації овальбуміном.

Методи дослідження – експериментальний, морфометричний, гістологічний, електронномікроскопічний, статистичний:

- експериментальним методом змодельоване овальбумін-індуковане алергічне запалення в легенях морської свинки;

- морфометричним та мікроскопічним методами проведена оцінка динаміки клітинного складу респіраторного епітелію, розмірів оболонок бронхів малого калібру, термінальних бронхіол, кількості еозинофільних гранулоцитів.

- електронномікроскопічним методом вивчені ультрамікроскопічні зміни в клітинах респіраторного епітелію, еозинофільних гранулоцитах, аерогематичному бар'єрі;

- метод варіаційної статистики.

Таким чином, в цю проблему можуть внести ясність результати детального вивчення гістоструктури дистальних дихальних шляхів та респіраторного відділу легень, отримані за допомогою сучасних методів дослідження.

Дані, що отримані щодо закономірностей морфогенезу дистальних дихальних шляхів та респіраторного відділу легень при дії факторів алергенного характеру, відтворених в експерименті, знайдуть практичне використання в роботі морфологів, імунологів, пульмонологів.

РОЗДІЛ 1

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

На сучасному етапі медичної науки значна частина знань про морфологічні, фізіологічні та біохімічні зміни, що спостерігаються при тому чи іншому захворюванні, отримані з використанням експериментальних моделей на тваринах, адекватних різним захворюванням людини [4, 7, 10]. Лабораторні тварини традиційно використовуються для вивчення морфологічних особливостей і патогенезу різних захворювань і пошуку препаратів для їх лікування [1, 4, 7]. Не є винятком і бронхіальна астма - хвороба зі складним механізмом розвитку, в якому багато чого залишається мало зрозумілим і, отже, важким для контролю, в тому числі і для терапії [5, 18, 21, 26]. Морфологічною основою бронхіальної гіперчутливості при бронхіальній астмі є алергічне запалення дихальних шляхів, яке спостерігається на всіх етапах хвороби, незалежно від її важкості й перебігу [22, 23, 39, 40].

При розвитку алергічного запалення дихальних шляхів епітелій бронхів є одночасно медіатором і мішенню запалення, в результаті якого відбувається його ремоделювання, що є основою для обструкції просвіту дихальних шляхів [39, 42]. Крім того, останні дослідження свідчать про важливі імуногенні та імуномодулюючі функції епітелію дихальних шляхів [5, 6, 22]. Зокрема, тріада цитокінів, включаючи IL-25, IL-33 та TSLP (тимічний стромальний лімфопоетин), синтезується та секретується епітеліальними клітинами дихальних шляхів у відповідь на різні подразники навколишнього середовища та/або внаслідок пошкодження клітин [23]. Останні індукують запалення дихальних шляхів за Th2-типом і викликають ремоделювання та патологічні зміни стінки дихальних шляхів [11, 17].

Автори виявили, що експресія TSLP була більшою в легенях мишей з експериментальною овальбумін-індукованою астмою, ніж в інтактній групі [23]. Експресія CD40, CD80 та CD86 – цитокінів дендритних клітин, активованих TSLP, у бронхоальвеолярному лаважі також була збільшена у мишей після

сенсibilізації овальбуміном [18]. Даний факт імунологічних досліджень свідчить про ключову роль епітеліоцитів бронхів у гістофізіології алергічного запалення [21]. Таким чином, епітелій дихальних шляхів не просто структурний бар'єр, але також «активний учасник» алергічного запалення дихальних шляхів. Водночас, кількість робіт, присвячених вивченню морфологічних змін епітеліоцитів дихальних шляхів при алергічному запаленні в хронобіологічному аспекті, є незначною. Більшість наукових робіт, у фокусі яких вивчення епітелію дихальних шляхів при алергічному запаленні, є імунологічними дослідженнями [6, 38, 22]. Все вищезазначене вказує на необхідність уточнення даної актуальної проблеми з морфологічної точки зору в динаміці розвитку експериментального алергічного запалення.

До основних морфологічних змін, що спостерігаються в бронхах і легенях при алергічному запаленні відносяться: гіперплазія альвеолоцитів II типу, легенева еозинофільна інфільтрація навколо кровоносних судин, гіперплазія келихоподібних клітин, велика кількість лімфоцитів, макрофагів, мастоцитів, гіперплазія гладких міоцитів бронхів малого калібру і бронхіол, морфологічні зміни бронхіолярних екзокриноцитів, які вивчені недостатньо в динаміці експериментального овальбумін-індукованого алергічного запалення [32, 35].

Після створення моделі на тваринах експериментального алергічного запалення дихальних шляхів вченими в основному досліджувалась реакція клітинної та гуморальної ланок набутого специфічного імунітета [10, 11, 14]. Разом з тим відомо, що розвиток алергічного запалення дихальних шляхів є перш за все результатом відповіді системи локального вродженого імунітета на дію алергена [16, 19]. Питання про реакцію компонентів вродженого імунітету дихальних шляхів в алергічному запаленні у хронобіологічному аспекті в експерименті залишається відкритим.

ІЛ-5 вроджених лімфоїдних клітин 2 типа активує еозинофіли, сприяючи насамперед збільшенню їх кількості в сполучній тканині легень. Еозинофіли виділяють цитокіни С4, лейкотрієни і фактор, що активує тромбоцити [11, 15, 20]. Останні, в свою чергу, збільшують секрецію слиза келихоподібними клітинами і

стимулюють гіпертрофію і скорочення гладком'язового компонента бронхів. IL-13 вроджених лімфоїдних клітин 2 типу безпосередньо впливає на келихоподібні клітини слизової оболонки дихальних шляхів, стимулюючи їх гіперплазію і збільшену секрецію слиза [26].

Переважно еозинофільне запалення при БА викликає повністю або майже повністю зворотню бронхіальну обструкцію. Разом з тим інтенсивність запалення, а також його клітинні та молекулярні характеристики змінюються в динаміці розвитку алергічного запалення, морфологічні аспекти якої на сьогоднішній день досліджені недостатньо та потребують подальшого вивчення, на відміну від фізіологічних аспектів [3, 15, 40, 41].

Важливою частиною вродженого неспецифічного імунітету в легенях є секреція келихоподібних клітинами слиза в слизовій оболонці бронхів великого і середнього калібру і секреція сурфактанту. Сурфактант має в своєму складі нейтральні глікопротеїни і гліколіпіди, фагоцитується і переробляється комірковими макрофагоцитами [6, 16, 42]. Існують два види клітин в легенях, які секретують сурфактант. До них відносяться альвеолоцити 2 типу, які входять до складу стінки альвеол, і бронхіолярні екзокриноцити, які є основним клітинним типом епітелію термінальних і респіраторних бронхіол [32]. На сьогоднішній день відомо, що бронхіолярні екзокриноцити в легенях здійснюють протизапальний імуномодулюючий вплив, продукують компоненти сурфактанта, а саме SP-A, SP-B, SP-D. Дані гідрофобні білки попереджають адгезію стінки бронхіол і колапс дихальних шляхів на цьому рівні.

CC16 (CCSP, утероглобін) – секреторний білок БЕ, регулює в легенях імунну відповідь на різні інфекційні агенти та алергени [32]. БЕ здійснюють біотрансформацію різних інгальованих ксенобіотиків завдяки наявності цитохрома P450 і системи монооксигеназ. Є камбіальними клітинами для війчастих клітин, альвеолоцитів 1 і 2 типів і звичайно, своєї популяції. Динаміка кількісних змін бронхіолярних екзокриноцитів при алергічному запаленні раніше не досліджувалася. Таким чином, секреторний білок бронхіолярних екзокриноцитів модулює (пригнічує) Th-2 імунну відповідь і продукцію слиза.

Морфологічні особливості клітин Клара та роль їх секреторного продукту СС-16 в регуляції запалення при бронхіальній астмі та їх взаємодія з дихальними нейроендокриноцитами в динаміці розвитку алергічного запалення на сьогоднішній день не досліджені.

Для підтримки належного імунного гомеостазу респіраторного відділу легень необхідні спеціалізовані клітини, які можуть ефективно ініціювати або усувати запальні реакції. Коміркові макрофагоцити (КМ) та комірковий епітелій (КЕ) описані в літературі як найважливіші клітини у підтримці гомеостазу респіраторного відділу легень [6, 9, 42].

Існують два типи макрофагів у легенях, названих відповідно до їх локалізації [9]. КМ виявляються в легеневих комірках і термінальних дихальних шляхах. Існують також макрофаги, розташовані в міжкоміркових перегородках (перегородкові клітини) і в адвентиції кровоносних судин [9, 13]. Протягом багатьох років вважалося, що КМ диференціюються з моноцитів у легенях, хоча в останні роки встановлено, що КМ в основному походять з ембріонального жовткового мішка та клітин печінки плоду [16]. КМ забезпечують реакції локальної вродженої клітинної ланки імунітету легень шляхом фагоцитозу патогенів, апоптотичних клітин та інших частинок, що знаходяться в повітрі, запобігаючи цим непотрібному запаленню [42]. Хоча КМ не вважаються антигенпрезентуючими клітинами, вони можуть транспортувати антигени до дренажних лімфатичних вузлів [16, 23]. Проте в легенях презентація антигенів в основному опосередковується дендритними клітинами. Цікаво, що КМ пригнічують функцію дендритних клітин і міграцію їх в дихальні шляхи та з них, щоб уникнути розвитку алергічної запальної реакції. Крім того, КМ пригнічують в легенях Т-клітинну імунну відповідь, індукуючи експресію FoxP3 в Т-лімфоцитах. Дефект цієї функції спостерігається у пацієнтів з астмою, що демонструє важливість КМ в ініціації імунологічної толерантності [9, 16].

Функціональне «виснаження» КМ посилює розвиток алергічної астми та тяжкість перебігу грипозної інфекції, що свідчить про значну роль цих клітин у пригніченні імунних реакцій [6, 16]. Функції клітин завжди взаємопов'язані з їх

структурою, тому детальне вивчення ультраструктури КМ та їх гістохімічних властивостей може значно покращити наше розуміння закономірності їх морфофункціональних змін протягом раннього та пізнього періодів алергічного запального процесу.

Компоненти респіраторного відділу легень, в тому числі комірковий епітелій забезпечують газообмін і мають важливе значення для зниження поверхневого натягу на межі розділу повітря-рідина в легеневих комірках, а також для регуляції локальної імунної відповіді [16]. Альвеолоцити II типу синтезують, зберігають та секретують сурфактант, який включає молекули ліпідів та білків. Для цього альвеолоцити II мають унікальні органели для зберігання ліпідів та гідрофобних білків – пластинчасті тільця, які на ультраструктурному рівні корелюють з внутрішньоклітинним пулом сурфактанту. Пластинчасті тільця представляють собою видозмінені лізосоми, оточені мембраною і наповнені щільно упакованими мембранами поверхнево-активних ліпідів та гідрофобних білків. Ці пластинчасті тільця піддаються екзоцитозу та вивільнюють компоненти поверхнево-активних речовин у водну гіпофазу між альвеолоцитами та газоподібною фазою. Після екзоцитозу фосfolіпідів утворюють подвійний шар фосfolіпідів та глікопротеїнів, які заповнюють поверхню легеневих комірок на межі розділу повітря-рідина поверхнево-активними компонентами. SP-B і SP-C асоційовані з пластинчастими тільцями. Навпаки, SP-A та SP-D секретуються альвеолоцитами II типу незалежним від пластинчастих тілець шляхом.

SP-A та SP-D також секретуються бронхіолярними екзокриноцитами у дистальних дихальних шляхах – термінальних бронхіолах та в дихальних бронхіолах [32]. Після зворотнього захоплення альвеолоцитами типу II неактивні агрегати сурфактанту або катаболізуються або рециклуються шляхом повторного включення в метаболічний шлях синтезу. Певна частина сурфактанту фагоцитується та розщеплюється комірковими макрофагоцитами, або елімінується через дихальні шляхи за допомогою мукоциліарного кліренсу.

При алергічному запаленні дихальних шляхів розчинні білки сурфактанту зв'язують та регулюють ряд імунних ефекторних клітин. І SP-A, і SP-D

пригнічують активність алергічного запального процесу, що робить їх цікавими молекулами для лікування бронхіальної астми [43]. Вищезазначене вказує на необхідність уточнення субмікроскопічних змін КЕ та КМ в ранньому та пізньому періодах розвитку експериментального алергічного запального процесу.

Дані літератури про морфологічні зміни тканин бронхів і легень ссавців в нормі та в умовах розвитку раннього та пізнього періодів овалбумін-індукованого алергічного запалення показують, що багато сторін цієї проблеми досліджені недостатньо [29, 30, 34, 38]. Крім того, роботи, в яких оцінюються зміни зазначених органів об'єктивними кількісними методами, небагаточисельні і зачіпають лише окремі аспекти проблеми [19, 21, 23, 42]. Зокрема, відсутні кількісні морфометричні характеристики структурних компонентів дихальних шляхів і легень в динаміці розвитку експериментального алергічного запалення, не проводилася оцінка структурної організації та кількісних змін клітинних популяцій, таких як дихальні ендокриноцити, бронхіолярні екзокриноцити, коміркові макрофагоцити, альвеолоцити 1 і 2 типу та ін., не досліджувалися компоненти аерогематичного бар'єру, реакція ГМЦР в хронобіологічному аспекті в ранньому та пізньому періодах розвитку алергічного запалення. Тому дослідження даних аспектів в динаміці експериментального овалбумін-індукованого алергічного запалення представляє актуальну проблему сучасної морфології та потребує детального висвітлення у науковій роботі.

На сьогоднішній день є очевидним фактом того, що епітелій дихальних шляхів є не просто пасивним бар'єром, а невід'ємною частиною місцевої імунологічної резистентності дихальних шляхів, поєднуючи вроджену та адаптивну ланку місцевої імунної системи проти різних антигенів. Незаперечні докази вказують на дисфункцію епітелію дихальних шляхів при алергічному запальному процесі, яка відіграє вирішальну роль у розвитку, прогресуванні та загостренні бронхіальної астми. Ці порушення включають як структурні, так і імунологічні компоненти, які в сукупності можуть впливають на формування наслідків алергічного запального процесу.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Об'єктом експериментального дослідження були легені, котрі вилучені від 48 статевозрілих самців морської свинки, які утримувались у стандартних умовах віварію Запорізького державного медичного університету. Досліди на тваринах виконувались з дотриманням ухвали Першого національного конгресу з біоетики про захист хребетних тварин в експерименті.

Індукція алергічного запалення дихальних шляхів здійснювалась шляхом трьохразової підшкірної сенсibilізації та наступної аероалергізації овальбуміном (ОВА) [29]. На 1, 7, 14 день експерименту морським свинкам проводилась сенсibilізація – підшкірне введення в міжлопаткову ділянку 0,5 мг овальбуміна (Sigma Chemical Co., США) разом з ад'ювантом - гідроокисом алюмінію, 10 мг (AlumVax Hydroxide vaccine adjuvant, OZ Biosciences Франція), розведених в 1 мл фізіологічного розчину. З 21 по 28 день експерименту тварини були аероалергізовані ОВА в дозі 10 мг/мл фізіологічного розчину протягом 15 хв/добу за допомогою компресорного інгалятора LD-211С (Little Doctor International, Сингапур) в інгаляційній камері.

Для проведення дослідження тварини були розподілені на 6 груп (по 8 тварин у кожній групі). Перші чотири групи це тварини, сенсibilізовані та аероалергізовані ОВА, виведені з експерименту відповідно на 23-у, 30-у, 36-у і 44-у добу після його початку; 5 - контрольна група, тваринам якої вводили підшкірно 1 мл фізіологічного розчину та проводили інгаляцію фізіологічним розчином; 6 – інтактна група. Експеримент відповідав вимогам Закону України No3447-І від 21.02.06 р. „Про захист тварин від жорстокого поводження”.

З метою раціональної подачі одержаних даних і їх інтерпретації умовно виділяємо ранній (23-тя, 30-а доби експерименту) та пізній (36-а і 44-а доби після початку експерименту) періоди розвитку алергічного запального процесу в легенях (табл. 2.1.).

Таблиця 2.1

Розподіл тварин по групам дослідження

Група	Тип експерименту	К-ть тварин
1	сенсibilізовані та аерoалергізовані ОВА, виведені з експерименту на 23-ю добу після його початку	8
2	сенсibilізовані та аерoалергізовані ОВА, виведені з експерименту на 30-у добу після його початку	8
3	сенсibilізовані та аерoалергізовані ОВА, виведені з експерименту на 36-у добу після його початку	8
4	сенсibilізовані та аерoалергізовані ОВА, виведені з експерименту на 44-у добу після його початку	8
5	контрольна група, тваринам якої вводили підшкірно 1 мл фізіологічного розчину та проводили інгаляцію фізіологічним розчином	8
6	Інтактна група	8
Всього	Тварини	48

Тварин виводили з експерименту шляхом передозування тіопенталового наркозу згідно встановлених термінів (23-ю, 30-у, 36-у і 44-у доби експерименту). Шматочки легень фіксували у 10% нейтральному забуференому розчині формаліну (рН 7,2-7,4). Наступним етапом була дегідратація у спиртах зростаючої концентрації, заливка в парафінові блоки, виготовлення гістологічних зрізів товщиною 3-4 мкм, в подальшому забарвлених гематоксилін-еозином [8].

Морфологічне дослідження отриманих зрізів проводили за допомогою світлового мікроскопа Primo Star (Zeiss, Німеччина) із цифровою мікрофотонасадкою «Ахіосам 105 color», з використанням комп'ютерної програми «ZEISS ZEN 2011 software». Дослідження проводилися при збільшенні $\times 100$, $\times 400$, та при імерсійному збільшенні мікроскопа $\times 1000$.

Визначали величину товщини дихальної слизової, м'язової та адвентиційної оболонки малих бронхів і термінальних бронхіол.

У складі дихального епітелію дихальної слизової оболонки малих бронхів, термінальних бронхіол підраховували середню кількість основних, війчастих епітеліоцитів, келихоподібних екзокриноцитів; бронхіолярних екзокриноцитів на умовну одиницю площі 10000 мкм^2 при імерсійному збільшенні мікроскопа ($\times 1000$). Підраховували середню кількість еозинофільних гранулоцитів у стінці внутрішньолегеневих дихальних шляхів (середні та малі бронхи, термінальні бронхіоли) і в сполучнотканинній стромі легеневої часточки на умовну одиницю площі 5000 мкм^2 .

Для проведення електронної мікроскопії шматочки тканини легень морської свинки завтовшки $1 \times 1 \text{ мм}$ відразу ж після вилучення фіксували у $2,5 \%$ розчині глутаральдегіду з подальшою обробкою в 1% розчині тетраоксиду осмію. Надалі шматочки проводили по висхідній батареї спиртів до 100% спирту, ацетон з додатковим контрастуванням протягом двох годин в $2,5 \%$ ураніацетат на 700 С . Заливку в блок здійснювали поступовим просочуванням тканини окисом ацетону з епоном ($2:1$; $1:1$; $1:2$) і заливали в чистий епон. Полімеризацію смол проводили в два етапи при $36 \text{ }^\circ\text{C}$ (12 годин) і $56 \text{ }^\circ\text{C}$ (24 години). На ультратомі «PowerTome RMC Voesckeler» отримували напівтонкі ($1\text{--}2 \text{ }\mu\text{m}$) і ультратонкі ($55\text{--}65 \text{ nm}$) зрізи. Ультратонкі зрізи контрастували цитратом свинцю за Рейнольдсом протягом 25 хвилин при кімнатній температурі. Ультратонкі зрізи вивчали в електронному мікроскопі ПЕМ-100-01 при прискорюючій напрузі 65 кВ . Електронномікроскопічним методом вивчали ультраструктурні особливості клітин дихального та коміркового епітелію, аеро-гематичного бар'єру, еозинофільних гранулоцитів.

Результати досліджень оброблені сучасними статистичними методами аналізу на персональному комп'ютері з використанням стандартного пакета програм Microsoft Office 2010 (Microsoft Excel) та «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoft Inc., США, ліцензія 46 № AXXR712D833214FAN5) на базі операційної системи Windows 10, а також за допомогою бібліотек NumPy (BSD

License), SciPy (BSD License), pandas (BSD License), pandas-profiling (MIT License), для візуалізації оброблених даних використовували бібліотеку matplotlib (BSD License) для мови програмування Python [5, 10].

Гіпотезу про нормальність розподілу досліджуваних показників перевіряли з використанням критерію Шапіро-Уїлка та критерію узгодженості Колмогорова – Смирнова. Для перевірки гіпотези про приналежність двох незалежних вибірок одному закону розподілу використовували критерій однорідності Колмогорова – Смирнова. Розраховували середні арифметичні (M) та стандартні похибки середньої ($\pm m$). Статистичну значимість міжгрупових відмінностей за отриманими даними встановлювали за допомогою параметричного t-критерію Стьюдента (*) та непараметричного U-критерію Уїтні-Манна (p^{**}). Отримані показники порівнювались між медіаною і міжквартильним розмахом Me ($Q1; Q3$) [10]. Статистично значущими вважали відмінності між порівнюваними значеннями на рівні 95% ($p < 0.05$).

РОЗДІЛ 3

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ СТІНКИ ДИХАЛЬНИХ ШЛЯХІВ МОРСЬКИХ СВИНОК В ДИНАМІЦІ ОВАЛЬБУМІН-ІНДУКОВАНОГО АЛЕРГІЧНОГО ЗАПАЛЕННЯ

3.1 Морфологічні зміни еозинофільних гранулоцитів легень морських свинок, сенсibilізованих овальбуміном

При морфометричному дослідженні легень морської свинки виявлено, що в тварин інтактної групи найбільша кількість еозинофілів спостерігається навколо термінальних бронхіол. Менша їх кількість виявлена навколо малих та середніх бронхів. Після сенсibilізації та інгаляційної алергізації ОВА топографія еозинофільних гранулоцитів змінюється.

У тварин 1-ої - 4-ої експериментальних груп найбільший вміст еозинофільних гранулоцитів спостерігається навколо судин і дихальних бронхіол у складі легеневого ацинуса, навколо термінальних бронхіол, менше їх у стінці внутрішньолегеневих бронхів (рис. 3.1.1). Звертають на себе увагу дилатація м'язових венул в інтерстиції легеневого ацинуса, периваскулярні скупчення еозинофільних гранулоцитів, емфізематозне розширення легневих комірок. Цікавим є зафіксований факт міграції основних епітеліоцитів з дихальної слизової оболонки малих бронхів до адвентиційної оболонки (рис.3.1.1b).

У тварин інтактної та контрольної груп вміст еозинофільних гранулоцитів в стінці середніх бронхів морських свинок статистично значимо не відрізнявся ($p^{***} > 0,05$). Після дії овальбуміна середня кількість еозинофільних гранулоцитів у бронхах середнього калібру статистично значимо збільшилась з 23-ої по 44-ту добу після початку експеримента, порівняно з інтактною групою та контролем ($p^{***} < 0,05$).

На ультраструктурному рівні у цитоплазмі еозинофільних гранулоцитів наявні специфічні (вторинні) великі еозинофільні гранули овальної форми. Специфічні гранули містять центрально розташоване кристалоїдне тільце високої

електроннооптичної щільності і периферичний матрикс низької електроннооптичної щільності, оточений мембраною.

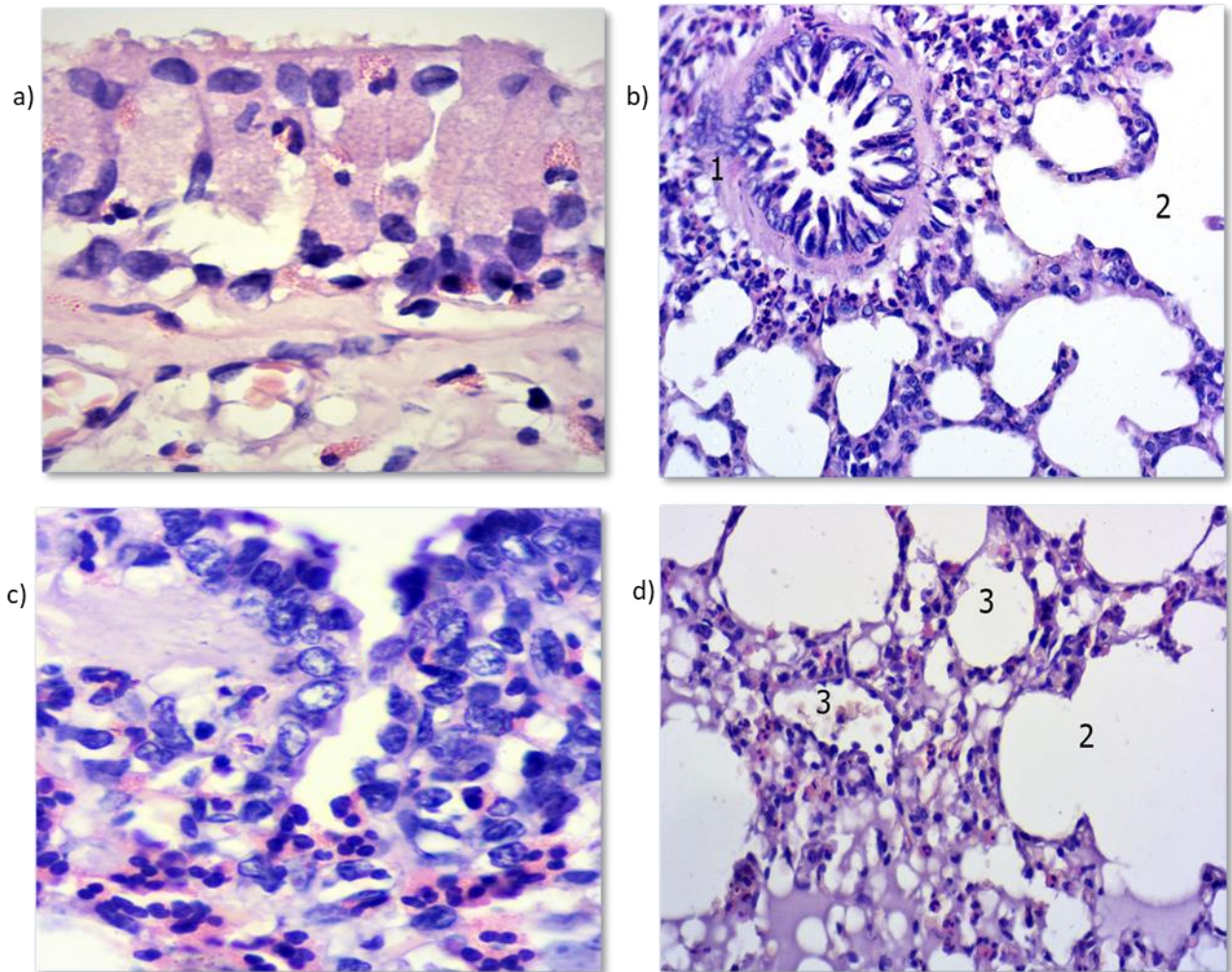


Рисунок 3.1.1 – Інфільтрація еозинофільними гранулоцитами різних відділів легені морської свинки після сенсibilізації та аероалергізації овальбуміном на 23-тю (3.1.1b), 30-ту (3.1.1c, 3.1.1d), 36-ту доби (3.1.1a) після початку експеримента. 3.1.1a – еозинофільні гранулоцити в стінці бронха середнього калібра; 3.1.1b – інфільтрація еозинофілами адвентиційної оболонки малого бронха; 3.1.1c – термінальна бронхіола; 3.1.1d – інтерстицій легеневого ацинуса. 1 - міграція основних епітеліоцитів до адвентиційної оболонки малого бронха; 2 - емфізематозне розширення легневих комірок; 3 – м'язові венули інтерстицію легеневої часточки.

Забарвлення гематоксиліном та еозином.

Зб. 3.1.1a, 3.1.1c - $\times 1000$; 3.1.1b, 3.1.1d - $\times 400$.

Неспецифічні (первинні) малі еозинофільні гранули менші за розміром, містять кристалоїдний білок Шарко-Лейдена. Цікаво, що циркулюючий еозинофільний гранулоцит, перш ніж проникнути до тканини легень, «прилипає» до ендотелію кровоносної судини і «котиться» по його поверхні (рис. 3.1.2а).

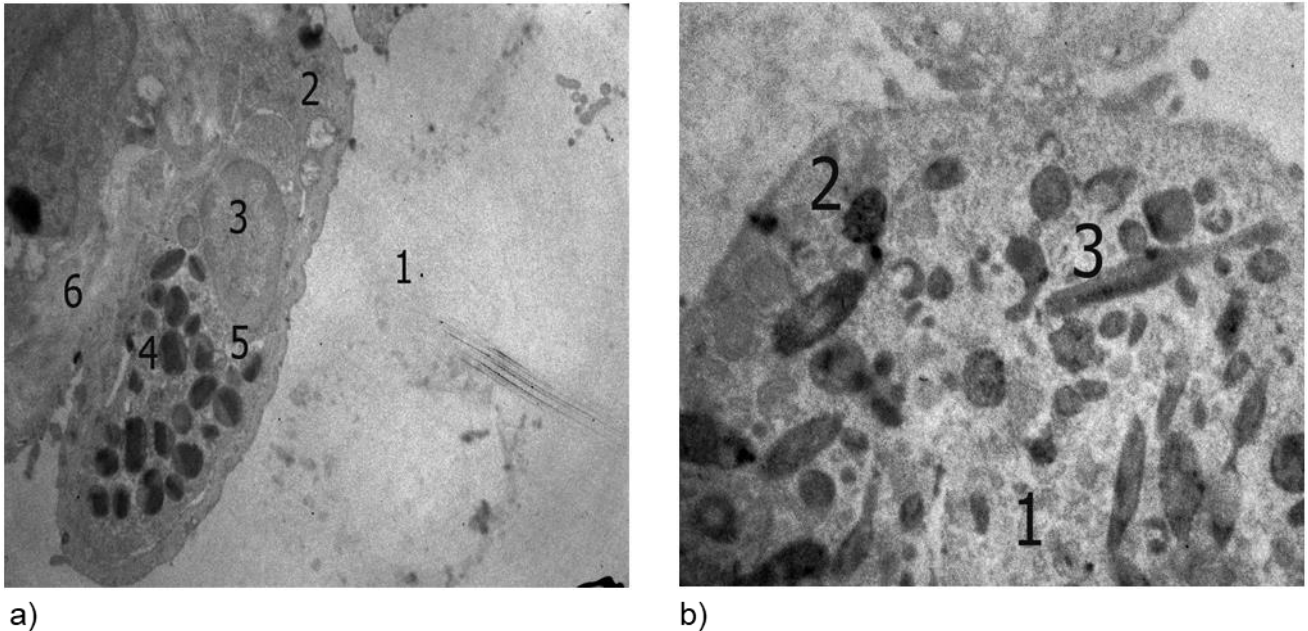


Рисунок 3.1.2 – Ультраструктурні особливості еозинофільних гранулоцитів легень морських свинок після сенсibiliзації та аероалергізації овальбуміном. 3.1.2а – контрольна група; 3.1.2b - 1-ша експериментальна група (23-тя доба після початку експерименту). 3.1.2а: 1 – просвіт кровоносної судини; 2 – еозинофільний гранулоцит; 3 – ядро; 4 – велика еозинофільна гранула; 5 – мала еозинофільна гранула; 6 – ендотелій кровоносної судини.

3.1.2b: 1 – цитоплазма; 2 – лізосома; 3 – «еозинофільна сомбреро-везикула».

Електронограми. 3.1.2а) $\times 6000$. 3.1.2b) $\times 8000$

Протягом раннього періоду розвитку алергічного запального процесу ми спостерігали субмікроскопічні ознаки часткової дегрануляції (англ. piecemeal degranulation (PMD) еозинофільних гранулоцитів. Пухирці (як круглі, так і трубчасті) вивільнюються зі специфічних гранул і переміщуються до клітинної оболонки для екзоцитозу свого вмісту. Трубчасті пухирці закручуються у

витягнуту кільцеподібну структуру, що описується терміном «еозинофільні сомбреро-везикули» (рис. 3.1.2b).

У тварин 1-ої експериментальної групи середня кількість еозинофілів в стінці середніх бронхів становить 8.5 ± 0.22 в полі зору, що в 7,5 рази більше порівняно з аналогічним показником в контрольній групі. На 30-ту добу спостереження у тварин 2-ої експериментальної групи середня кількість еозинофілів в стінці середніх бронхів становить 7.25 ± 0.27 в полі зору, що в 6,5 рази більше порівняно з аналогічним показником в контрольній групі (табл. 3.1.1).

Таблиця 3.1.1

Вміст еозинофільних гранулоцитів в легенях морських свинок в динаміці овальбумін-індукованого алергічного запалення

ВЛ	Групи спостереження / Середня кількість клітин в полі зору					
	1 група	2 група	3 група	4 група	5 група контроль	6 група інтактна
СБ	$8.5 \pm 0.22^{*/**}$	$7.25 \pm 0.27^{*/**}$	$9.12 \pm 0.25^{*/**}$	$7.12 \pm 0.23^{*/**}$	1.12 ± 0.06	1.75 ± 0.10
МБ	$9.62 \pm 0.14^{*/**}$	$11.25 \pm 0.19^{*/**}$	$8.0 \pm 0.17^{*/**}$	$6.12 \pm 0.17^{*/**}$	1.25 ± 0.06	1.38 ± 0.08
ТБ	$13.5 \pm 0.3^{*/**}$	$10.25 \pm 0.45^{*/**}$	$7.62 \pm 0.16^{*/**}$	$3.12 \pm 0.09^{*/**}$	1.62 ± 0.08	3.0 ± 0.14
ЛА	$27.0 \pm 0.8^{*/**}$	$14.75 \pm 0.2^{*/**}$	$10.5 \pm 0.32^{*/**}$	$8.75 \pm 0.24^{*/**}$	4.12 ± 0.2	2.25 ± 0.14

Примітка 1. * – $p < 0,05$ (t-критерій Стьюдента); ** – $p < 0,05$ (U-критерій Уїтні-Манна) по відношенню до контролю. $M \pm m$. (n=8).

Примітка 2. ВЛ – відділ легень; СБ – бронх середнього калібра; МБ – малий бронх; ТБ – термінальна бронхіола; ЛА – легеневий ацинус.

В пізньому періоді розвитку експериментального овальбумін-індукованого алергічного запалення зберігається тенденція до зростання кількості еозинофілів в стінці середніх бронхів.

На 36-ту добу після початку експеримента у тварин 3-ої експериментальної групи середня кількість еозинофілів в стінці середніх бронхів становить 9.12 ± 0.25 в полі зору, що в 8,1 рази більше порівняно з аналогічним показником в контрольній групі. У тварин 4-ої експериментальної групи на 44-ту добу після початку експерименту даний показник становить 7.12 ± 0.23 в полі зору, коефіцієнт збільшення 6,4, порівняно з контрольною групою (табл. 3.1.1).

З огляду на те, що остання інгаляція відбулася на 28-ий день після початку експеримента, факт збільшеного вмісту еозинофілів на 36-ту і навіть на 44-ту добу свідчить про продовження розвитку алергічного запалення при відсутності дії алергена.

У слизовій та адвентиційній оболонках малих бронхів у контрольній та інтактній групах нами не зафіксовано статистично значимих відмінностей вмісту еозинофільних гранулоцитів ($p^{***} > 0,05$). Після дії овальбуміна їх кількість у стінці малих бронхів статистично значимо збільшилась в усіх експериментальних групах, порівняно з інтактною групою і контролем ($p^{***} < 0,05$).

У тварин 1-ої експериментальної групи на 23-тю добу після початку експерименту середня кількість еозинофілів у стінці малих бронхів становить 9.62 ± 0.14 в полі зору, що в 7,7 рази більше порівняно з аналогічним показником в контрольній групі. Максимальний вміст еозинофільних гранулоцитів у стінці малих бронхів в експериментальних групах зафіксований на 30-ту добу після початку експеримента у тварин 2-ої експериментальної групи, після чого поступово знижується, але не досягає нормальних показників навіть на 44-ту добу спостереження у тварин 4-ої експериментальної групи. На 30-ту добу спостереження у тварин 2-ої експериментальної групи даний показник становить 11.25 ± 0.19 в полі зору, що в 9 разів більше порівняно з аналогічним показником у тварин контрольної групи.

В пізньому періоді розвитку алергічного запалення у тварин 3-ої експериментальної групи на 36-ту добу після початку експерименту середня середня кількість еозинофілів у стінці малих бронхів становить 8.0 ± 0.17 в полі зору, що в 6,4 рази більше порівняно з аналогічним показником в контрольній

групі, проте в 1,4 рази менше ($p^{***} < 0,05$) порівняно з попереднім терміном спостереження у тварин 2-ої експериментальної групи. На 44-ту добу після початку експеримента у тварин 4-ої експериментальної групи середня кількість еозинофілів у стінці малих бронхів становить 6.12 ± 0.17 в полі зору, що в 4,9 рази більше порівняно з аналогічним показником в контрольній групі, проте в 1,8 рази менше ($p^{***} < 0,05$) порівняно з аналогічним показником в 2-ій експериментальній групі на 30-ту добу після початку експерименту.

У стінці термінальних бронхіол в контрольній та інтактній групах нами не зафіксовано статистично значимих відмінностей вмісту еозинофільних гранулоцитів ($p^{***} > 0,05$). Після сенсibiliзації та алергізації овалбуміном їх кількість у стінці термінальних бронхіол статистично значимо збільшилась в усіх експериментальних групах, порівняно з інтактною та контрольною групами тварин ($p^{***} < 0,05$).

Максимальний вміст еозинофільних гранулоцитів у стінці термінальних бронхіол в експериментальних групах зафіксований на 23-тю добу після початку експеримента у тварин 1-ої експериментальної групи, після чого поступово знижується, але не досягає нормальних показників навіть на 44-у добу. У тварин 1-ої експериментальної групи на 23-тю добу після початку експерименту середня кількість еозинофілів у стінці термінальних бронхіол становить 13.5 ± 0.3 в полі зору, що в 8,3 рази більше порівняно з аналогічним показником в контрольній групі. На 30-ту добу спостереження у тварин 2-ої експериментальної групи даний показник становить 10.25 ± 0.45 в полі зору, що в 6,3 рази більше порівняно з контролем.

В пізньому періоді розвитку алергічного запалення у тварин 3-ої експериментальної групи на 36-ту добу після початку експерименту середня кількість еозинофілів у стінці термінальних бронхіол становить 7.62 ± 0.16 в полі зору, що в 4,7 рази більше порівняно з аналогічним показником в контрольній групі, проте в 1,8 рази менше ($p^{***} < 0,05$) порівняно з 1-ою експериментальною групою. На 44-ту добу після початку експеримента у тварин 4-ої експериментальної групи середня кількість еозинофілів у стінці термінальних

бронхіол становить 3.12 ± 0.09 в полі зору, що в 2 рази більше порівняно з аналогічним показником в контрольній групі, проте в 2,4 рази менше ($p^{***} < 0,05$) порівняно з аналогічним показником попереднього терміну спостереження у тварин 3-ої експериментальної групи.

В контрольній та інтактній групах нами не зафіксовано статистично значимих відмінностей вмісту еозинофільних гранулоцитів ($p^{***} > 0,05$) у складі сполучної тканини легеневої часточки. Після сенсibiliзації та алергізації овальбуміном їх кількість в легеневій часточці статистично значимо збільшилась в усіх експериментальних групах, порівняно з інтактною групою і контролем ($p^{***} < 0,05$). Максимальний вміст еозинофільних гранулоцитів у легеневій часточці в експериментальних групах зафіксований на 23-тю добу після початку експеримента у тварин 1-ої експериментальної групи, після чого поступово знижується, але не досягає нормальних показників навіть на 44-ту добу у тварин 4-ої експериментальної групи.

У тварин 1-ої експериментальної групи на 23-тю добу після початку експерименту середня кількість еозинофілів у легеневому інтерстиції становить 27.0 ± 0.8 в полі зору, що в 6,5 рази більше порівняно з аналогічним показником в контрольній групі. На 30-ту добу спостереження у тварин 2-ої експериментальної групи даний показник становить 14.75 ± 0.2 в полі зору, що в 3,6 рази більше порівняно з контролем, але в 1,8 рази менше порівняно з попереднім терміном спостереження.

В пізньому періоді розвитку алергічного запалення у тварин 3-ої експериментальної групи на 36-ту добу після початку експерименту середня кількість еозинофілів у легеневій часточці становить 10.5 ± 0.32 в полі зору, що в 2,5 рази більше порівняно з аналогічним показником в контрольній групі, проте в 1,4 рази менше ($p^{***} < 0,05$) порівняно з 2-ою експериментальною групою на 30-ту добу після початку експеримента. На 44-ту добу після початку експеримента у тварин 4-ої експериментальної групи середня кількість еозинофілів у легеневій часточці становить 8.75 ± 0.24 в полі зору, що в 2 рази більше порівняно з аналогічним показником в контрольній групі, проте в 1,7 рази

менше ($p^{*/**} < 0,05$) порівняно з аналогічним показником в 2-ій експериментальній групі на 30-ту добу після початку експеримента.

3.2 Морфологічні особливості бронхів малого калібру і термінальних бронхіол морських свинок при алергічному запаленні

Після сенсibilізації овальбуміном, ми виявили гістологічні зміни в легенях морської свинки у вигляді потовщення стінки малих бронхів і термінальних бронхіол, зміни в структурі легеневих комірок, зростання кількості перибронхіальних та периваскулярних лімфоїдних скупчень, порівняно з контрольною групою (рис. 3.2.1).

Ступінь прояву запальних змін збільшується в міру зменшення діаметру бронхів, досягаючи свого максимуму в термінальних дихальних шляхах. В малих бронхах і термінальних бронхіолах ми також спостерігали десквамацію бронхіолярного епітелію у просвіт дихальних шляхів, часткове оголення основної пластинки та еозинофільну перибронхіальну інфільтрацію (рис. 3.2.1b). Звертає на себе увагу нерівномірне потовщення м'язової пластинки слизової оболонки малих бронхів внаслідок гіперплазії гладком'язового шару (рис. 3.2.1a, 3.2.1b).

Просвіт деяких бронхів звужений (рис. 3.2.1d) або і зовсім obtурований (рис. 3.2.1c), що є морфологічним підтвердженням бронхоспазму в тварин після сенсibilізації та алергізації овальбуміном. Звуження просвіту і obtурація малих бронхів супроводжується відповідною появою ділянок ателектазів легеневих часточок (рис. 3.2.1c), що також свідчить про наявність бронхообструкції на рівні бронхів малого калібру і термінальних бронхіол.

Статистично значима різниця між показниками товщини оболонок малих бронхів у тварин інтактної та контрольної груп була відсутня ($p^{*/**} > 0,05$), що свідчить про те, що сама процедура проведення експерименту не впливає на зміни морфометричних параметрів стінки малих бронхів. Після сенсibilізації та інгаляційної алергізації овальбуміном в ранньому періоді розвитку експериментального овальбумін-індукованого алергічного запалення у тварин 1-ої та 2-ої експериментальних груп спостерігається тенденція до зменшення товщини дихальної слизової оболонки малих бронхів.

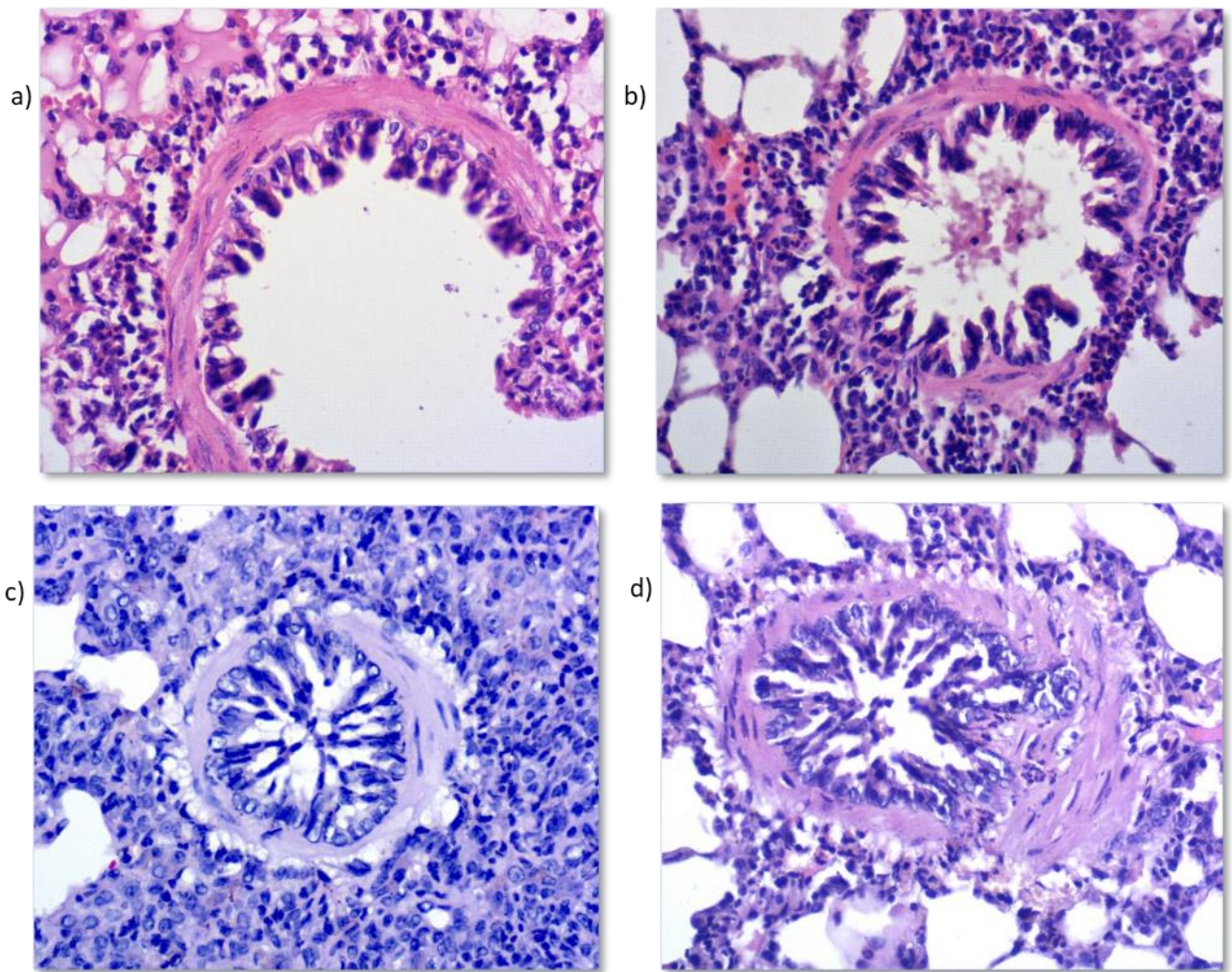


Рисунок 3.2.1 – Мікроскопічні зміни стінки малих бронхів і термінальних бронхіол після сенсibiliзації та аероалергізації овальбуміном на 23-тю (3.2.1а, 3.2.1b), 36-ту (3.2.1c), 44-ту (3.2.1d) доби після початку експеримента.

3.2.1а - гіперплазія гладком'язового шару малого бронха; 3.2.1b – лімфоцито-лейкоцитарна інфільтрація стінки малого бронха; 3.2.1c – обтурація просвіту бронха в ділянці ателектазу; 3.2.1d – нерівномірне потовщення м'язового шару та звуження просвіту малого бронха.

Забарвлення: 3.2.1а, 3.2.1b, 3.2.1c - гематоксиліном та еозином.

3.2.1d – PAS-реакція. 3б. $\times 400$.

У тварин 1-ої експериментальної групи на 23-тю добу після початку експерименту товщина дихальної слизової оболонки малих бронхів складає 40.46 ± 0.44 мкм, що в 1,3 рази менше аналогічного показника у тварин контрольної групи ($p^{***} < 0,05$) (див. табл. 3.2.1).

Таблиця 3.2.1

**Морфометричні показники стінки малих бронхів морських свинок,
сенсibilізованих овальбуміном**

Група	I	II	III
1	40.46±0.44 ^{*/**}	20.57±0.29	26.12±0.18 ^{*/**}
2	42.29±0.53 ^{*/**}	25.59±0.23 ^{*/**}	29.68±0.31 ^{*/**}
3	43.38±0.55 ^{**}	29.1±0.46 ^{*/**}	30,01±0.32 ^{*/**}
4	48.63±0.49	24.73±0.12 ^{*/**}	25.93±0.18 ^{*/**}
5	52.04±0.66	17.0±0.28	22.19±0.25
6	53.74±0.49	17.17±0.35	22.26±0.28

Примітка 1. * – $p < 0,05$ (t-критерій Стьюдента); ** – $p < 0,05$ (U-критерій Уїтні-Манна) по відношенню до контролю. $M \pm m$. (n=8).

Примітка 2. I – товщина дихальної слизової оболонки (мкм); II – товщина м'язової оболонки (мкм); III – товщина адвентиційної оболонки (мкм).

Статистично значиме потоншення дихальної слизової оболонки малих бронхів виявляється і на 30-ту добу спостереження у тварин 2-ої експериментальної групи - 42.29±0.53 мкм, що в 1,2 рази менше ($p^{*/**} < 0,05$) аналогічного показника у тварин контрольної групи (табл. 3.2.1).

Протягом пізнього періоду розвитку алергічного запалення зберігається достовірна тенденція до потоншення дихальної слизової оболонки малих бронхів. Статистично значиме зменшення ($p^{**} < 0,05$) товщини дихальної слизової оболонки малих бронхів, у порівнянні з контрольною групою, наявна у тварин 3-ої експериментальної групи на 36-ту добу після початку експерименту - 43.38±0.55 мкм. На 44-ту добу спостереження у тварин 4-ої експериментальної групи відмічається тенденція наближення показника товщини слизової оболонки малих бронхів до показників в контрольній групі. У тварин 4-ої експериментальної групи на 44-ту добу після початку експерименту товщина дихальної слизової оболонки малих бронхів становить 48.63±0.49 мкм, що в 1,2

рази більше порівняно з аналогічним показником в 1-ій експериментальній групі на 23-тю добу після початку експерименту ($p^{*/**} < 0,05$).

Статистично значимих відмінностей між показниками товщини м'язової оболонки малих бронхів у тварин інтактної та контрольної груп не спостерігається ($p^{*/**} > 0,05$). В ранньому періоді розвитку експериментального овальбумін-індукованого алергічного запалення в легенях виявляється тенденція до збільшення товщини м'язової оболонки малих бронхів. Статистично значиме потовщення м'язової оболонки малих бронхів виявляється з 30-ої доби експерименту у тварин 2-ої експериментальної групи - 25.59 ± 0.23 мкм, коефіцієнт збільшення 1,5, порівняно з аналогічним показником в контрольній групі та 1,2 – порівняно з попереднім терміном спостереження у тварин 1-ої експериментальної групи ($p^{*/**} < 0,05$).

В пізній період розвитку алергічного запалення в легенях морської свинки статистично значиме потовщення м'язової оболонки малих бронхів в 1,7 разів ($p^{*/**} < 0,05$) - порівняно з контролем і в 1,4 рази ($p^{*/**} < 0,05$) – порівняно з 1-ою експериментальною групою, виявляється в 3-ій експериментальній групі на 36-ту добу спостереження – 29.1 ± 0.46 мкм. Тенденція до потовщення м'язової оболонки малих бронхів зберігається і на 44-ту добу спостереження в 4-ій експериментальній групі і становить 24.73 ± 0.12 мкм, що в 1,5 рази більше аналогічного показника в контрольній групі ($p^{*/**} < 0,05$), проте в 1,2 рази менше ($p^{**} < 0,05$) порівняно з аналогічним показником в 3-ій експериментальній групі на 36-ту добу після початку експерименту.

В інтактній групі товщина адвентиційної оболонки малих бронхів складає 22.26 ± 0.28 мкм. Статистично значима різниця між даними показниками у тварин інтактної та контрольної груп відсутня. Після сенсibiliзації та інгаляційної алергізації овальбуміном спостерігається тенденція до зростання товщини адвентиційної оболонки малих бронхів протягом всіх термінів спостереження.

У тварин 1-ої експериментальної групи на 23-тю добу після початку експерименту товщина адвентиційної оболонки малих бронхів складає 26.12 ± 0.18 мкм, що в 1,2 рази більше ($p^{*/**} < 0,05$) аналогічного показника контрольної групи.

Статистично значиме потовщення адвентиційної оболонки малих бронхів, у порівнянні з контрольною групою, наявна і у тварин 2-ої експериментальної групи на 30-ту добу після початку експерименту - 29.68 ± 0.31 мкм, що в 1,3 рази більше ($p^{***} < 0,05$) аналогічного показника контрольної групи.

Максимального потовщення адвентиційна оболонка малих бронхів морських свинок досягає у пізній період розвитку алергічного запального процесу на 36-ту добу спостереження у тварин 3-ої експериментальної групи - $30,01 \pm 0.32$ мкм, коефіцієнт збільшення 1,4, порівняно з аналогічним показником у тварин контрольної групи ($p^{***} < 0,05$). На 44-ту добу спостереження у тварин 4-ої експериментальної групи товщина адвентиційної оболонки малих бронхів становить 25.93 ± 0.18 мкм, що в 1,2 рази більше ($p^{***} < 0,05$) аналогічного показника контрольної групи, проте менше в 1,2 рази ($p^{***} < 0,05$) порівняно з аналогічним показником попереднього терміну спостереження.

Статистично значима різниця між показниками товщини слизової оболонки термінальних бронхіол у тварин інтактної та контрольної груп була відсутня ($p^{***} > 0,05$). Після сенсibiliзації та інгаляційної алергізації овальбуміном в ранньому періоді розвитку алергічного запалення в легенях спостерігається тенденція до зменшення товщини слизової оболонки термінальних бронхіол. У тварин 1-ої експериментальної групи на 23-тю добу після початку експерименту товщина слизової оболонки термінальних бронхіол складає 21.23 ± 0.2 мкм, що в 1,2 рази менше аналогічного показника у тварин контрольної групи ($p^{***} < 0,05$). Починаючи з 30-ої доби експерименту у тварин 2-ої експериментальної групи спостерігається поступове збільшення товщини слизової оболонки термінальних бронхіол. У тварин 2-ої експериментальної групи на 30-ту добу спостереження товщина слизової оболонки термінальних бронхіол становить 26.24 ± 0.42 мкм, що в 1,2 рази більше ($p^{**} < 0,05$) порівняно з аналогічним показником попереднього терміну спостереження у тварин 1-ої експериментальної групи на 23-тю добу після початку експерименту.

Статистично значиме потовщення слизової оболонки термінальних бронхіол виявляється на 36-ту добу спостереження у тварин 3-ої експериментальної групи - 32.17 ± 0.39 мкм, що в 1,3 рази більше аналогічного показника контрольної групи ($p^{*/**} < 0,05$) і в 1,2 рази більше порівняно з попереднім терміном спостереження ($p^{**} < 0,05$). На 44-ту добу спостереження товщина слизової оболонки термінальних бронхіол становить 28.44 ± 0.4 мкм, що в 1,2 рази менше ($p^{*/**} < 0,05$) порівняно з аналогічним показником попереднього терміну спостереження у тварин 3-ої експериментальної групи (табл. 3.2.2).

Таблиця 3.2.2

Морфометричні показники стінки термінальних бронхіол морських свинок, сенсibiliзованих овальбуміном

Група	I	II	III
1	$21.23 \pm 0.2^{*/**}$	11.76 ± 0.14	15.13 ± 0.2
2	26.24 ± 0.42	$13.53 \pm 0.34^{**}$	14.02 ± 0.09
3	$32.17 \pm 0.39^{*/**}$	$13.67 \pm 0.17^{*/**}$	$18.76 \pm 0.1^{*/**}$
4	28.44 ± 0.4	11.73 ± 0.18	13.97 ± 0.1
5	24.92 ± 0.22	10.42 ± 0.07	12.98 ± 0.2
6	24.8 ± 0.36	10.08 ± 0.14	13.08 ± 0.19

Примітка 1. * – $p < 0,05$ (t-критерій Стьюдента); ** – $p < 0,05$ (U-критерій Уїтні-Манна) по відношенню до контролю.

Примітка 2. I – товщина слизової оболонки (мкм); II – товщина м'язового шару (мкм); III – товщина адвентиційної оболонки (мкм). $M \pm m$. (n=8).

Статистично значущих відмінностей між показниками товщини м'язового шару термінальних бронхіол у тварин інтактної та контрольної груп не спостерігається ($p^{*/**} > 0,05$). В ранньому періоді розвитку експериментального овальбумін-індукованого алергічного запалення в легенях морських свинок виявляється тенденція до збільшення товщини м'язового шару термінальних бронхіол.

Статистично значиме потовщення м'язового шару термінальних бронхіол виявляється з 30-ої доби експерименту у тварин 2-ої експериментальної групи - 13.53 ± 0.34 мкм, коефіцієнт збільшення 1,3, порівняно з аналогічним показником у тварин в контрольній групі та 1,2 – порівняно з попереднім терміном спостереження у тварин 1-ої експериментальної групи ($p^{***} < 0,05$). В пізній період розвитку алергічного запалення в легенях морської свинки статистично значиме потовщення м'язового шару термінальних бронхіол, порівняно з контролем в 1,3 рази ($p^{***} < 0,05$), виявляється у 3-ій експериментальній групі на 36-ту добу спостереження – 13.67 ± 0.17 мкм (див. табл. 3.4). При порівнянні даного показника з попередніми термінами спостереження ми виявили, що він також в 1,2 рази більше ($p^{***} < 0,05$) порівняно з 1-ою експериментальною групою. На 44-ту добу спостереження відмічається тенденція наближення показника товщини м'язового шару термінальних бронхіол до показників в контрольній групі. У тварин 4-ої експериментальної групи товщина слизової оболонки термінальних бронхіол становить 11.73 ± 0.18 мкм.

Після інгаляційної алергізації овальбуміном виявили потовщення стінки малих бронхів і термінальних бронхіол за рахунок набряку власної пластинки дихальної слизової оболонки і гіпертрофії гладких міоцитів м'язової оболонки у порівнянні з тваринами контрольної групи. Ми спостерігали десквамацію бронхіолярного епітелію у просвіт дихальних шляхів, накопичення слиза, пласти епітелію з домішками лімфоцитів, нейтрофілів, еозинофілів (рис. 3.2.2b, 3.2.2d). У складі термінальних бронхіол, особливо в місцях переходу їх до респіраторних бронхіол ми спостерігали наявність нейроепітеліальних тіл, які склалися із паралельно розташованих, низькопризматичних клітин без війок – дихальних нейроендокриноцитів. Дихальні нейроендокриноцити у складі нейроепітеліального тіла контактували основним полюсом з основною перетинкою і апікальним – з просвітом дихальних шляхів (рис. 3.2.2c).

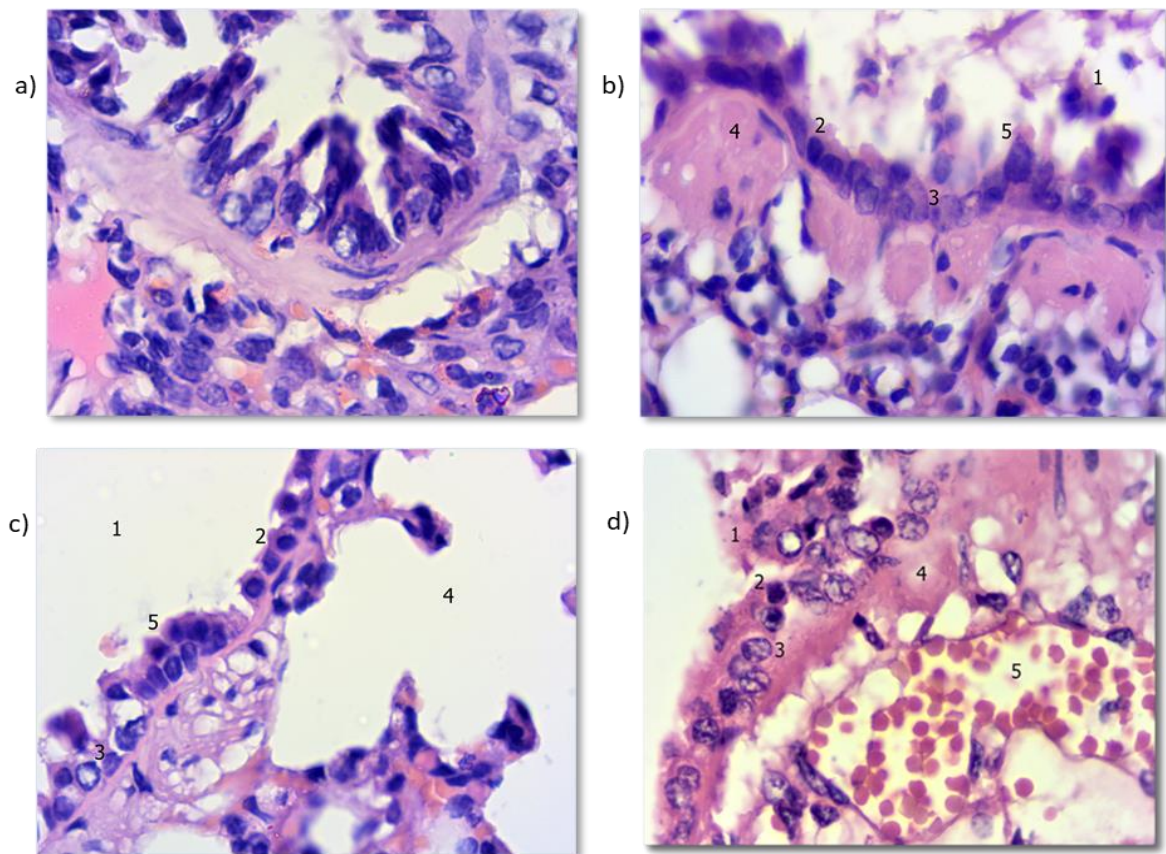


Рисунок 3.2.2 – Мікроскопічні зміни стінки малих бронхів і термінальних бронхіол морської свинки після сенсibilізації овальбуміном на 23-тю (3.2.2d), 30-ту (3.2.2b) доби після початку експеримента у порівнянні з контрольною групою (3.2.2a, 3.2.2c). 3.2.2a – малий бронх. 3.2.2b – малий бронх:

1 - десквамація епітелію у просвіт бронху; 2 – основний епітеліоцит;
 3 – бронхіоллярний екзокриноцит; 4 - нерівномірне потовщення м'язової оболонки; 5 – вейчастий епітеліоцит. 3.2.2c термінальна бронхіола: 1 – просвіт; 2 – основний епітеліоцит; 3 – бронхіоллярний екзокриноцит; 4 – коміркова протока; 5 – нейроепітеліальне тіло. 3.2.2d – термінальна бронхіола: 1 - десквамація епітелію у просвіт; 2 – основний епітеліоцит; 3 – бронхіоллярний екзокриноцит; 4 - набряк та нерівномірне потовщення м'язової оболонки; 5 – повнокрів'я венули.

Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. $\times 1000$.

У тварин 1-ої експериментальної групи на 23-тю добу після початку експерименту середня кількість основних епітеліоцитів складала 7.12 ± 0.14 у полі зору, що статистично значимо менше в 1,5 рази ($p^{***} < 0,01$) аналогічного

показника контрольної групи. Статистично значиме зменшення середньої кількості основних епітеліоцитів бронхів, у порівнянні з контрольною групою, наявне і у тварин 2-ої експериментальної групи на 30-ту добу після початку експерименту - 7.50 ± 0.18 у полі зору, що в 1,4 рази ($p^{*/**} < 0,05$) менше аналогічного показника у тварин контрольної групи

Протягом пізнього періоду розвитку алергічного запалення ми спостерігали статистично значиме зростання середньої кількості основних епітеліоцитів малих бронхів у тварин 3-ої експериментальної групи на 36-ту добу після початку експерименту у порівнянні з попередньою 2-ою експериментальною групою на 30-ту добу після початку експерименту (9.75 ± 0.13 у полі зору), що в 1,3 рази більше ($p^{**} < 0,05$) аналогічного показника 2-ої експериментальної групи, що свідчить про тенденцію до поступової нормалізації даного показника.

На 44-ту добу спостереження у тварин 4-ої експериментальної групи середня кількість основних епітеліоцитів малих бронхів 9.88 ± 0.10 у полі зору, що статистично значимо більше аналогічного показника в 2-ій експериментальній групі на 30-ту добу після початку експерименту ($p^{*/**} < 0,05$). Статистично значима відмінність між показником 4-ої експериментальної групи і контрольної групи відсутня, що свідчить про нормалізацію даного показника на 44-ту добу спостереження.

Статистично значиме зростання середньої кількості основних недиференційованих епітеліоцитів у складі епітелію термінальних бронхіол ми спостерігали в ранньому періоді розвитку алергічного запалення у тварин 2-ої експериментальної групи на 30-ту добу після початку експерименту - 9.62 ± 0.09 у полі зору, що вдвічі більше порівняно з аналогічним показником у тварин контрольної групи (табл. 3.2.3).

Таблиця 3.2.3

**Морфометричні показники епітелію малих бронхів і термінальних
бронхіол морських свинок після сенсibiliзації овальбуміном**

Група	I		II		III		IV	
1	A	7.12±0.14 ^{*/**}	A	9.75±0.11 ^{*/**}	A	4.50±0.09 ^{*/**}	A	3.62±0.13 ^{*/**}
	B	4.62±0.16	B	-	B	11.75±0.26 ^{*/**}	B	-
2	A	7.50±0.18 ^{*/**}	A	10.12±0.27 ^{*/**}	A	8.12±0.10	A	4.25±0.11 ^{*/**}
	B	9.62±0.09 ^{*/**}	B	-	B	11.88±0.25 ^{*/**}	B	-
3	A	9.75±0.13	A	12.62±0.14 ^{*/**}	A	9.00±0.20	A	3.25±0.07 ^{*/**}
	B	6.50±0.17	B	-	B	12.0±0.27 ^{*/**}	B	-
4	A	9.88±0.10	A	15.38±0.14	A	7.25±0.11	A	1.62±0,05
	B	5.38±0.16	B	-	B	17.75±0.28	B	-
5	A	10.38±0.10	A	15.25±0.16	A	7.50±0.10	A	1.62±0.07
	B	4.75±0.08	B	-	B	18.5±0.24	B	-
6	A	10.25±0.17	A	15.75±0.27	A	7.25±0.10	A	1.88±0.06
	B	4.62±0.10	B	-	B	18.88±0.20	B	-

Примітка 1. * – $p < 0,05$ (t-критерій Стьюдента); ** – $p < 0,05$ (U-критерій Уїтні-Манна) по відношенню до контролю. $M \pm m$. (n=8).^{*/**}

Примітка 2. А – малий бронх; В – термінальна бронхіола. I – середня кількість основних (недиференційованих) епітеліоцитів/10000 $\mu\text{м}^2$; II – середня кількість війчастих епітеліоцитів/10000 $\mu\text{м}^2$; III – середня кількість бронхіолярних екзокриноцитів/10000 $\mu\text{м}^2$; IV – середня кількість келихоподібних екзокриноцитів/10000 $\mu\text{м}^2$.

В пізньому періоді розвитку алергічного запалення на 36-ту добу спостереження у тварин 3-ої експериментальної групи середня кількість недиференційованих епітеліоцитів у складі епітелію термінальних бронхіол становила 6.50 ± 0.17 у полі зору, що статистично значимо менше в 1,5 рази ($p^{*/**} < 0,01$) порівняно з попереднім терміном спостереження у тварин 2-ої експериментальної групи.

Війчасті епітеліоцити в нормі переважають за кількістю серед інших клітин диферону епітелію малих бронхів. Статистично значуща різниця між показниками середньої кількості війчастих епітеліоцитів малих бронхів у тварин інтактної та контрольної груп була відсутня ($p^{*/**} > 0,05$). Сенсibiliзація та аероалергізація овальбуміном призвела до статистично значимого зменшення кількості війчастих епітеліоцитів протягом раннього періоду розвитку овальбумін-індукованого алергічного запалення дихальних шляхів. На 23-тю добу після початку експерименту в 1-ій експериментальній групі середня кількість війчастих епітеліоцитів малих бронхів морської свинки становила 9.75 ± 0.11 у полі зору, що в 1,6 рази статистично значимо менше ($p^{*/**} < 0,001$), порівняно з аналогічним показником у тварин контрольної групи. У тварин 2-ої експериментальної групи на 30-ту добу після початку експерименту середня кількість війчастих епітеліоцитів малих бронхів становила 10.12 ± 0.27 у полі зору, що в 1,5 рази ($p^{*/**} < 0,01$) менше аналогічного показника контрольної групи.

У тварин 3-ої експериментальної групи на 36-ту добу після початку експерименту середня кількість війчастих епітеліоцитів малих бронхів становила 12.62 ± 0.14 у полі зору, що в 1,2 рази ($p^{*/**} < 0,05$) менше аналогічного показника контрольної групи, проте статистично значимо більше ($p^{**} < 0,05$) порівняно з попереднім терміном спостереження. На 44-ту добу спостереження у тварин 4-ої експериментальної групи середня кількість війчастих епітеліоцитів малих бронхів морської свинки становила 15.38 ± 0.14 у полі зору, що в 1,2 рази статистично значимо більше ($p^{*/**} < 0,05$), порівняно з аналогічним показником в 3-ій експериментальній групі на 36-ту добу після початку експерименту.

Бронхіолярні екзокриноцити локалізуються переважно в термінальних і респіраторних бронхіолах і є основним клітинним фенотипом дистальних дихальних шляхів морської свинки. Клітини пірамідної форми з апікальною частиною, виступаючою у просвіт термінальної бронхіоли. Ядро велике, середньої електроннооптичної щільності, овальної форми, світле, з переважанням еухроматину, містить ядерце. В цитоплазмі наявні мітохондрії, гранулярна ендоплазматична сітка, лізосоми з ознаками дегенерації. Щільні міжклітинні контакти із сусідніми клітинами. В умовах розвитку алергічного запального процесу ми спостерігали ознаки підвищеної функціональної активності бронхіолярних екзокриноцитів: наявність ядра з переважанням еухроматину, нуклеоплазми низької електроннооптичної щільності, ядерця, розвинута гранулярна ендоплазматична сітка (рис. 3.2.3).

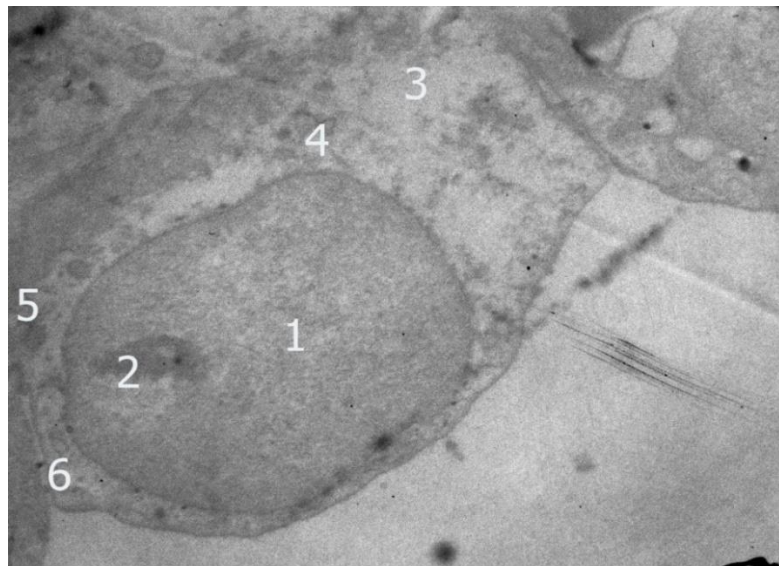


Рисунок 3.2.3 – Бронхіолярний екзокриноцит у стінці термінальної бронхіоли легені морської свинки. 1 експериментальна група на 23-тю добу після початку експерименту. 1 – ядро; 2 – ядерце; 3 – цитоплазма; 4 – мітохондрія; 5 – лізосома; 6 – гранулярна ендоплазматична сітка.

Електронограма. $\times 6000$.

Статистично значиме зменшення середньої кількості бронхіолярних екзокриноцитів у складі малих бронхів, у порівнянні з контрольною групою, наявне тільки в ранньому періоді розвитку алергічного запалення у тварин 1-ої

експериментальної групи на 23-тю добу після початку експерименту - 4.50 ± 0.09 у полі зору, що в 1,6 рази ($p^{***} < 0,01$) менше аналогічного показника контрольної групи. Протягом наступних термінів спостереження відбувалося поступове зростання даного показника. У тварин 2-ої експериментальної групи середня кількість бронхіолярних екзокриноцитів малих бронхів становила 8.12 ± 0.10 у полі зору, що в 1,8 рази ($p^{***} < 0,001$) більше аналогічного показника попереднього терміну спостереження. Статистично значиме зменшення середньої кількості бронхіолярних екзокриноцитів ми спостерігали також і у складі термінальних бронхіол, у порівнянні з контрольною групою.

В ранньому періоді розвитку алергічного запалення у тварин 1-ої експериментальної групи на 23-тю добу після початку експерименту середня кількість бронхіолярних екзокриноцитів термінальних бронхіол становила 11.75 ± 0.26 у полі зору, що в 1,6 рази ($p^{***} < 0,01$) менше аналогічного показника у тварин контрольної групи. До кінця експерименту відбулося відновлення середньої кількості бронхіолярних екзокриноцитів до показника тварин контрольної групи. Так, у тварин 4-ої експериментальної групи на 44-ту добу після початку експерименту середня кількість бронхіолярних екзокриноцитів термінальних бронхіол становила 17.75 ± 0.28 у полі зору, що в 1,5 рази ($p^{***} < 0,05$) більше аналогічного показника попереднього терміну спостереження у тварин 3-ої експериментальної групи.

Найсуттєвіші морфометричні зміни ми спостерігали відносно келихоподібних екзокриноцитів дихальної слизової оболонки малих бронхів морських свинок на тлі сенсibiliзації та аероалергізації овальбуміном. На субмікроскопічному рівні ми виявили збільшену кількість гранул із слизовим секретом у цитоплазмі келихоподібних екзокриноцитів (рис. 3.2.4).

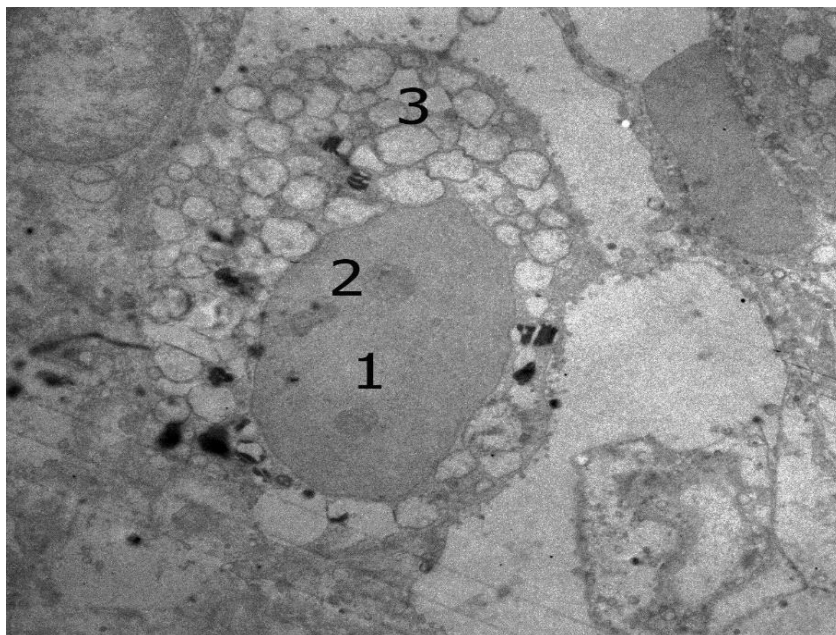


Рисунок 3.2.4 – Збільшення кількості секреторних гранул у цитоплазмі келихоподібного екзокриноцита дихальної слизової оболонки бронху легені морської свинки. 2-га експериментальна група (30-та доба після початку експерименту). 1 – ядро; 2 – ядерце; 3 – багаточисельні гранули зі слизовим секретом у цитоплазмі.

Електронограма. $\times 6000$

У тварин 1-ої експериментальної групи на 23-тю добу після початку експерименту середня кількість келихоподібних екзокриноцитів складала 3.62 ± 0.13 у полі зору, що статистично значимо більше в 2,2 рази ($p^{***} < 0,05$) аналогічного показника у тварин контрольної групи. Статистично значиме збільшення середньої кількості келихоподібних екзокриноцитів малих бронхів морських свинок, у порівнянні з аналогічним показником у тварин контрольної групи, наявне і у тварин 2-ої експериментальної групи на 30-ту добу після початку експерименту - 4.25 ± 0.11 у полі зору, що в 2,6 рази ($p^{***} < 0,01$) більше аналогічного показника контрольної групи.

Протягом пізнього періоду розвитку алергічного запалення спостерігається тенденція до поступового зменшення кількості келихоподібних екзокриноцитів дихальної слизової оболонки бронхів та повернення даного показника до нормальних параметрів до кінця експерименту. Статистично значиме зростання

середньої кількості келихоподібних екзокриноцитів бронхів, у порівнянні з контрольною групою, наявне у тварин 3-ої експериментальної групи на 36-ту добу після початку експерименту - 3.25 ± 0.07 у полі зору, що в 2 рази більше ($p^{***} < 0,01$) аналогічного показника контрольної групи. На 44-ту добу спостереження у тварин 4-ої експериментальної групи середня кількість келихоподібних екзокриноцитів малих бронхів $1.62 \pm 0,05$ у полі зору, що статистично значимо вдвічі менше ($p^{***} < 0,01$) порівняно з 3-ою експериментальною групою на 36-ту добу після початку експерименту. В термінальних бронхіолах морської свинки келихоподібні екзокриноцити відсутні.

Отже, при оглядовій мікроскопії внутрішньолегених бронхів і легень експериментальних тварин нами виявлено часткове оголення базальної мембрани за рахунок десквамації бронхіального епітелія, нерівномірне її потовщення в окремих ділянках, а також нерівномірне потовщення м'язової пластинки слизової оболонки бронхів. В просвіті бронхів ми спостерігали десквамований епітелій, гранулоцити, еритроцити, збільшену кількість слизу. Звертали на себе увагу зменшення діаметру просвіту малих бронхів і термінальних бронхіол, вірогідно за рахунок гіперплазії та гіперреактивності гладком'язового компонента.

Нами виявлений факт потоншення дихальної слизової оболонки малих бронхів в ранньому періоді розвитку алергічного запального процесу в легенях на 23-тю і 30-ту доби спостереження. Одночасно при цьому в 1-ій та 2-ій експериментальних групах спостерігається потовщення спіральної м'язової оболонки бронхів відповідно в 1,2 і в 1,4 рази, порівняно з контролем. При цьому статистично значимі зміни товщини дихальної слизової оболонки бронхів у тварин даної групи відсутні, що свідчить про суттєве пошкодження епітеліального шару слизової оболонки бронхів одночасно з гіпертрофією гладких міоцитів. Проведене нами дослідження визначає закономірність динаміки структурних елементів стінки малих бронхів і термінальних бронхіол. Найбільш значущі та реактивні зміни метричних показників стінки середніх і малих бронхів встановлені на 23-тю і 30-ту доби спостереження у вигляді потоншення слизової

оболонки та на 36-ту добу у вигляді потовщення м'язового шару і адвентиційної оболонки.

Проведене дослідження визначає закономірність змін клітинного складу епітелію малих бронхів і термінальних бронхіол в динаміці алергічного запалення. Найбільш значущі реактивні морфометричні зміни встановлені на 23-тю і 30-ту доби спостереження у вигляді зменшення кількості основних та в'їчастих епітеліоцитів та зростання середньої кількості келихоподібних екзокриноцитів у складі епітелію малих бронхів, а також зменшення середньої кількості бронхіолярних екзокриноцитів у складі термінальних бронхіол.

Таким чином, зіставлення досліджених морфологічних змін, підтверджених морфометричним аналізом, дозволяє виявити закономірність реакції епітелію бронхів у відповідь на сенсibiliзацію та алергізацію овальбуміном. Проліферація та диференціювання основних та вставних епітеліоцитів відбувається переважно у напрямі келихоподібних екзокриноцитів. Викликані овальбуміном морфологічні зміни у стінці бронхів мають стадійний характер: альтеративно-ексудативні - в ранньому періоді, та проліферативні – в пізньому періоді розвитку алергічного запалення.

3.3 Морфологічні зміни компонентів аеро-гематичного бар'єру і респіраторного відділу легень морських свинок після сенсibiliзації овальбуміном

В контрольній та інтактній групах тварин світлооптичне дослідження морфологічної картини респіраторного відділу легень показало, що стінки легеневих комірок вистелені сплосченими альвеолоцитами I типу, серед яких локалізовані альвеолоцити II типу. В легеновому інтерстиції помічені перегородкові клітини, фібробласти, плазмоцити, еозинофільні гранулоцити (див. рис. 4.10а). Також ми виявили поодинокі коміркові макрофагоцити та еозинофільні гранулоцити у просвіті легеневих комірок (рис. 3.3.1).

В ранньому періоді розвитку алергічного запального процесу на 23-тю добу після початку експерименту у тварин 1-ої експериментальної групи в респіраторному відділі легень морських свинок ми виявили вогнищеву

вогнищеву деструкцію та десквамацію коміркового епітелію, міжкоміркових перегородок, оголення основної перетинки ендотелію кровноносних капілярів.

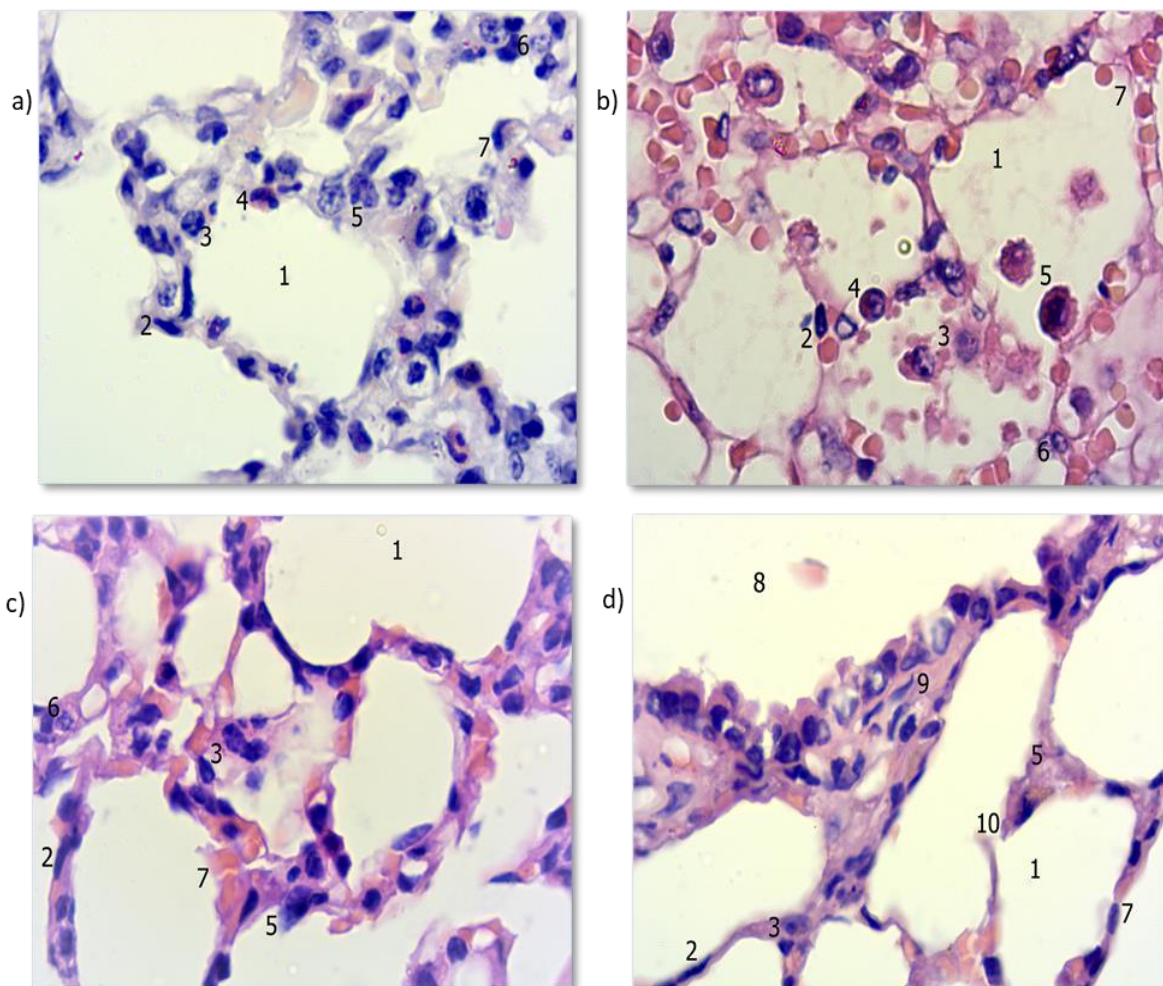


Рисунок 3.3.1 – Мікроскопічні зміни компонентів респіраторного відділу легень морських свинок після сенсibiliзації та аероалергізації овальбуміном на 23-тю (3.3.1b), 30-ту (3.3.1c) та 44-ту (3.3.1d) доби після початку експерименту у порівнянні з контрольною групою (3.3.1a).

1 – просвіт легеневої комірки; 2 – альвеолоцит I типу; 3 – альвеолоцит II типу; 4 – еозинофільний гранулоцит; 5 – комірковий макрофагоцит; 6 – плазмоцит; 7 – кровноносний капіляр; 8 – просвіт термінальної бронхіоли; 9 – гладкий м'яцук в стінці термінальної бронхіоли; 10 – коміркова пора.

Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб. $\times 1000$.

Численні коміркові макрофагоцити в просвіті легневих комірок з ознаками підвищеної фагоцитарної активності. Збільшився вміст еозинофільних

гранулоцитів. Крім того, ми спостерігали виражені мікроциркуляторні розлади, такі як повнокрів'я та стаз кровоносних капілярів та закапілярних венул, численні вогнища діapedезу еритроцитів в просвіт легеневих комірок та в легеневий. На 30-ту добу після початку експерименту морфологічні зміни респіраторного відділу легень стали менш вираженими, але зберігались мікроциркуляторні порушення у вигляді плетори та стазу кровоносних капілярів (рис. 3.3.1c). Місцями міжкоміркові перегородки були потовщені за рахунок набряку. Ми спостерігали тенденцію до відновлення коміркового епітелію.

В пізньому періоді розвитку алергічного запального процесу на 36-ту та 44-ту доби після початку експерименту в респіраторному відділі легень морських свинок ми показали потоншення міжкоміркових перегородок і водночас розширення легеневих комірок (рис. 3.3.1d), що відповідає ознакам емфізематозного ураження легень. Місцями були помітні плетора та стаз кровоносних капілярів, хоча і менш виражені, порівняно з раннім періодом розвитку алергічного запального процесу.

Виявлені на світлооптичному рівні морфологічні зміни підтверджуються результатами електронномікроскопічного дослідження. У тварин контрольної групи на субмікроскопічному рівні на апікальному полюсі альвеолоцитів II типу були виявлені короткі мікроросинки та невелика кількість пластинчастих тілець в їх цитоплазмі. Коміркові макрофагоцити мали слаборозвинену цитоплазматичну мембрану, що утворювала поодинокі клітинні відростки, в цитоплазмі рідкі вторинні лізосоми. В альвеолоцитах I типу визначалися більш розширена ядровмісна частина, виступаюча в просвіт легеневої комірки, та потоншені периферичні відділи цитоплазми. В ендотеліоцитах кровоносних капілярів в периферичній частині цитоплазми поодинокі піноцитозні пухирці.

В експериментальних групах звертали на себе увагу набряк та потовщення периферичних відділів цитоплазми альвеолоцитів I типу, стаз, повнокрів'я та деформація еритроцитів кровоносних капілярів. (рис. 3.3.2).

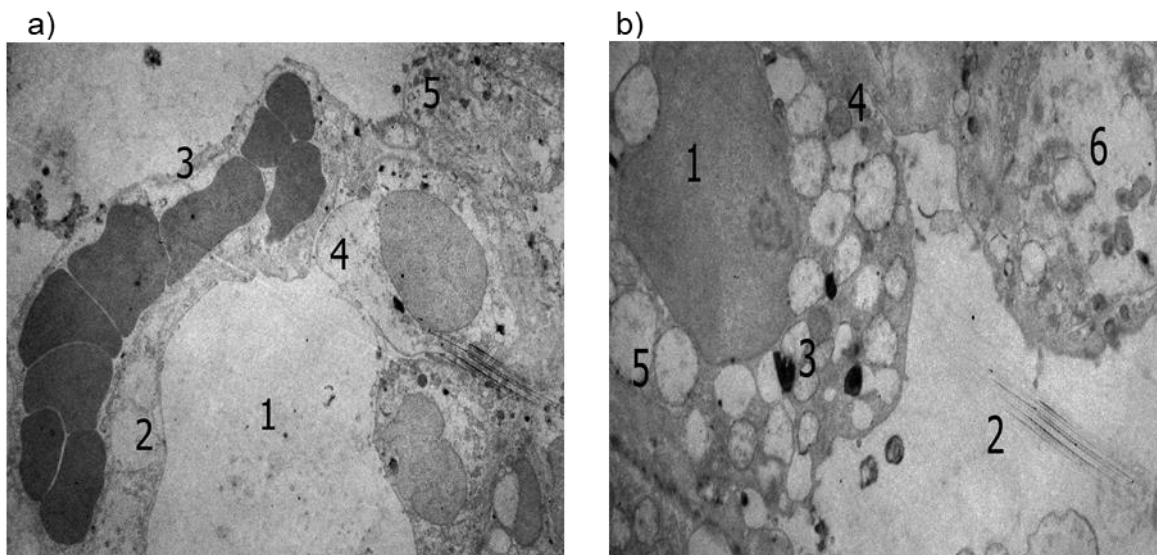


Рисунок 3.3.2 – Ультраструктурні зміни компонентів респіраторного відділу легень морських свинок після сенсibiliзації та аероалергізації овальбуміном на 23-тю (3.3.2a) та 36-ту (3.3.2b) доби після початку експеримента.

3.3.2a: 1 – просвіт легеневої комірки; 2 – альвеолоцит I типу; 3 – кровоносний капіляр; 4 – альвеолоцит II типу; 5 – комірковий макрофагоцит.

3.3.2b: 1 – ядро альвеолоциту II типу; 2 – просвіт легеневої комірки; 3 – пластинчасте тільце; 4 – мітохондрія; 4 – вакуолізація цитоплазми; 6 – фрагмент цитоплазми коміркового макрофагоциту.

Електронограми. Зб. 3.3.2a $\times 6000$. 3.3.2b $\times 6800$.

При електронномікроскопічному дослідженні коміркових макрофагоцитів морських свинок інтактної та контрольної груп мали круглу або овальну форму з круглим недеформованим ядром, без інвагінацій ядерної перетинки і з переважанням гетерохроматину з дифузним розташуванням. Нуклеоплазма мала середню електроннооптичну щільність. В залежності від функціонального стану, клітинна поверхня коміркових макрофагоцитів могла мати псевдоніжки та інвагінації. В цитоплазмі гранулярна ендоплазматична сітка і комплекс Гольджі розвинуті слабо, щільні мітохондрії невеликих розмірів, зустрічалися мікротрубочки та пучки актинових ниток. Форма, розміри та кількість лізосом та фагосом в цитоплазмі коміркових макрофагоцитів були варіабельними.

Відмічаємо зростання цитоплазматичних виростів та інвагінацій в плазмолемі альвеолярних макрофагоцитів після сенсibilізації овальбуміном (рис. 3.3.3).

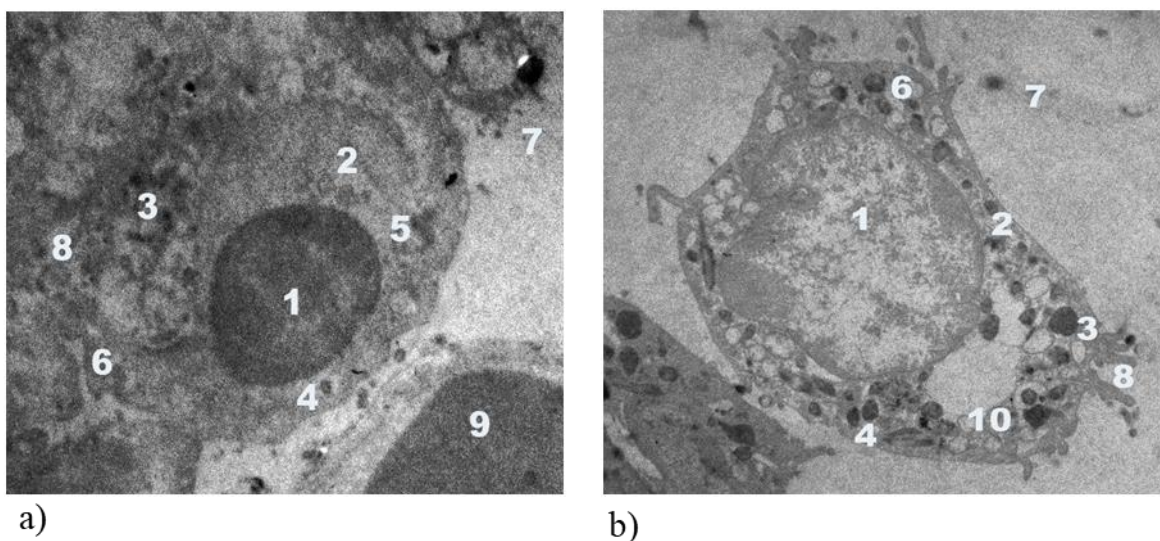


Рисунок 3.3.3 – Ультраструктурна організація коміркових макрофагоцитів легень морських свинок контрольної групи (а) та 2-ої експериментальної групи на 30-ту добу після початку експерименту (б). 1 – ядро; 2 – гранулярна ендоплазматична сітка; 3 – лізосома; 4 – мітохондрія; 5 – комплекс Гольджі; 6 – гетерофаголізосома; 7 – просвіт легеневої комірки; 8 – псевдоніжки плазмолемі; 9 – еритроцит в просвіті кровоносного капіляра; 10 – багатопухирцеве тільце.
Електроннограми. Зб. а) $\times 2200$; б) $\times 6000$

У ранньому періоді експериментального овальбумін-індукованого алергічного запалення (23–30 доби після початку експерименту) у складі легневих комірок морської свинки зустрічались коміркові макрофагоцити, ультраструктурні особливості яких відповідали активній фагоцитарній функції. Деформоване ядро їх розташовувалось ексцентрично, з наявними інвагінаціями. Нуклеоплазма з низькою електроннооптичною щільністю. Гранули гетерохроматину були локалізовані переважно поблизу внутрішньої ядерної перетинки. Плазмолема коміркових макрофагоцитів утворювала псевдоніжки та клітинні інвагінації різного розміру. В цитоплазмі ми відмічали більше лізосом,

гетерофаголізосом, багатопухирцевих і залишкових тілець, порівняно з контролем.

У пізньому періоді експериментального овальбумін-індукованого алергічного запалення на 36-ту добу досліду фагоцитарна активність коміркових макрофагоцитів зростає. В їх цитоплазмі збільшився вміст лізосом, гетерофаголізосом, залишкових тілець. На 44-ту добу після початку експерименту у тварин 4-ої експериментальної групи в коміркових макрофагоцитах виявлялись фрагменти ядер лімфоцитів. Гранулярна ендоплазматична сітка була більш розвинутою, порівняно з тваринами контрольної групи, і представлена вузькими і короткими цистернами. Комплекс Гольджі складався зі сплосчених цистерн і вакуолей, розташованих поблизу ядра. Також в цитоплазмі коміркових макрофагоцитів відмічали деструкцію мітохондрій, появу аутофаголізосом великого розміру і багатопухирцевих тілець.

Сенсибілізація та інгаляційна алергізація овальбуміном поряд із порушеннями ГМЦР призвели також до змін аеро-гематичного бар'єру легень морських свинок, виявлених нами на субмікроскопічному рівні. Перш за все, звертає на себе увагу десквамація коміркового епітелію, вогнищеве оголення основної пластинки, потовщення міжмембранного простору, набряк цитоплазми ендотеліоциту з дезорганізацією його мікрофіламентів. Цитоплазма альвеолоцитів 1 типу середньої електроннооптичної щільності, містить мікропіноцитозні пухирці в без'ядерній зоні.

Нами виявлені також зміна форми ендотеліоциту, що на електроннікроскопічному рівні проявляється потоншенням маргінальної зони, вип'ячуванням в просвіт капіляру навколоядерної зони, збільшення кількості цитоплазматичних виростів плазмолемі ендотеліоциту.. В контрольній та інтактній групах тварин міжмембранний простір, що складається з позаклітинного матриксу і перегородкових клітин, тонкий і компактний. В ранньому періоді розвитку алергічного запального процесу в легенях морської свинки спостерігаємо нерівномірне потовщення міжмембранного простору, зменшення його електроннооптичної щільності (рис. 3.3.4).

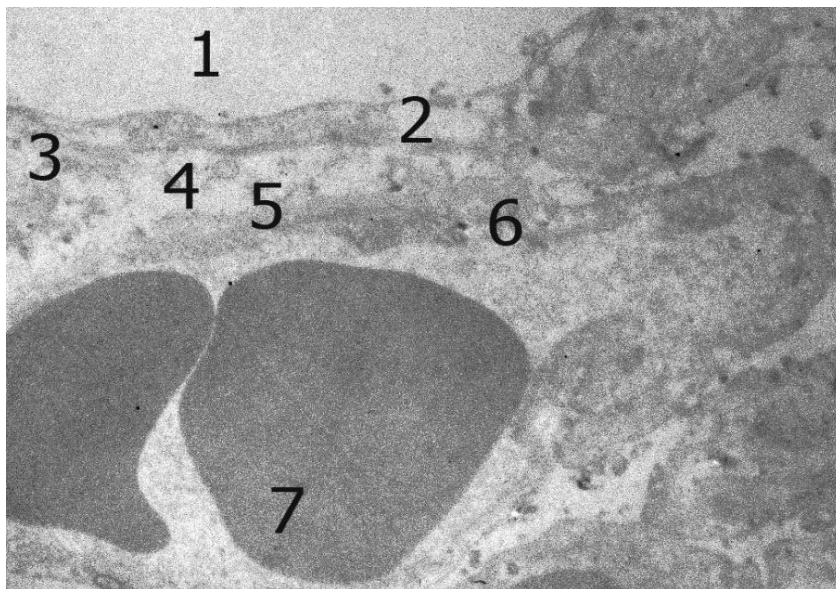


Рисунок 3.3.4 – Ультраструктурні особливості аерогематичного бар'єру морської свинки. Збільшення міжмембранного просвіту. 1-ша експериментальна група. Примітка: 1 – просвіт легеневої комірки; 2 – без'ядерна ділянка цитоплазми альвеолоцита 1 типу; 3 – піноцитозний пухирець; 4 – міжмембранний просвіт; 5 – основна пластинка; 6 – без'ядерна ділянка цитоплазми ендотеліоцита кровоносного капіляра; 7 – еритроцити в просвіті кровоносного капіляра.

Електронограма. 36. × 2200

Таким чином, в експериментальній моделі овальбумін-індукованого алергічного запалення дихальних шляхів відбувається суттєва реакція з боку клітинної ланки вродженого неспецифічного імунітету, що полягає передусім в активації еозинофільних гранулоцитів, мастоцитів та коміркових макрофагоцитів, а також гіперплазії та гіпертрофії келихоподібних клітин.

Найбільш значимі зміни спостерігались в дистальних відділах внутрішньолегеневих дихальних шляхів і в структурах легеневої комірки в ранній період розвитку запального процесу (23-тя та 30-та доба після початку експерименту). Пізній (36-а і 44-а доби після початку експерименту) період розвитку алергічного запального процесу в легенях супроводжується поступовим зниженням активності еозинофільного запалення. При цьому кількісні показники залишаються статистично значимо більшими за показники в інтактній та контрольній групах, що свідчить про продовження алергічного запалення при

відсутності дії алергена і є проявом порушення відновно-адаптаційних процесів у локальній імунній системі дихальних шляхів.

Морфологічний аналіз компонентів респіраторного відділу легень морських свинок дозволив виявити фазність змін впродовж розвитку алергічного запального процесу. Ранні стадії (23-тя та 30-та доби експерименту) характеризувались переважанням деструктивних змін. Десквамація коміркового епітелію з порушенням аерогематичного бар'єру на тлі порушення гемомікроциркуляції мали місце в ранньому періоді алергічного запального процесу. В альвеолоцитах II типу спостерігали ушкодження різного ступеню тяжкості. Виявлялись морфологічні ознаки підвищеної фагоцитарної активності коміркових макрофагоцитів. В пізні стадії розвитку експериментального алергічного запального процесу в респіраторному відділі легень переважали адаптаційно-відновні зміни. Також сенсibiliзація та алергізація овальбуміном призводить до суттєвої структурно-функціональної перебудови аеро-гематичного бар'єру в легенях морської свинки.

РОЗДІЛ 4

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

В нашому дослідженні сенсibiliзація та аероалергізація ОВА викликали розвиток алергічного запального процесу в легенях морських свинок, що підтверджується в наукових роботах інших вчених, які також використали схожу модель [4, 7, 10, 14, 42]. Ми прийшли до висновку, що механізм запалення алергічного генезу являє собою каскад процесів за участю великої різноманітності клітин, цитокінів і медіаторів, взаємодія яких і формує характерний запальний процес і викликане ним ремоделювання бронхів, кровоносних судин, компонентів респіраторного відділу легень [29].

Одним із головних маркерів розвитку алергічного процесу в легенях морської свинки в нашому експерименті є еозинофільне запалення, як результат реакції вродженої ланки імунітету на дію алергену, в якій задіяні епітеліоцити, дихальні нейроендокриноцити та вроджені лімфоїдні клітини 2 типу [11, 15, 20, 30, 36]. Ми вважаємо, що еозинофільне запалення дихальних шляхів в даному випадку є одним із компонентів морфологічної основи бронхіальної гіперчутливості і гіперреактивності.

За нашими спостереженнями, після реакції вродженого імунітету в ранньому періоді алергічного запалення розвивається каскад реакцій гуморальної ланки набутого імунітету, які максимально виражені протягом пізнього періоду розвитку алергічного запального процесу і в результаті яких утворюються специфічні антитіла до овальбуміна ОВА-IgE, що підтверджується іншими науковцями [15, 17, 33].

До основних морфологічних змін, що ми спостерігали в бронхах і легенях при алергічному запаленні відносяться: гіперплазія альвеолоцитів II типу, легенева еозинофільна інфільтрація навколо кровоносних судин і бронхів, гіперплазія келихоподібних клітин, велика кількість лімфоцитів, макрофагів, мастоцитів, гіперплазія гладких міоцитів бронхів малого калібру і бронхіол, а також кровоносних судин резистивної ланки ГМЦР. Ці дані узгоджуються з

авторами [10, 17, 22]. На нашу думку, виявлені нами морфологічні зміни у бронхах є результатом впливу еозинофільного катіонного і основного лужного білків еозинофілів, що підтверджується даними наукових досліджень [33, 40].

Переважно еозинофільне запалення викликає повністю або майже повністю зворотню бронхіальну обструкцію. Разом з тим інтенсивність запалення, а також його клітинні та молекулярні характеристики змінюються в процесі його прогресування. Виявлений характер запального процесу, коли еозинофільна інфільтрація в легенях залишається навіть при відсутності дії алергена у пізньому періоді алергічного запалення, на нашу думку, є проявом порушення відновно-адаптаційних процесів у локальній імунній системі дихальних шляхів. Подібні порушення спостігали інші науковці у своїх дослідженнях [39].

Отримана нами динаміка вмісту келихоподібних екзокриноцитів клітин в дихальних шляхах і респіраторному відділі легень пояснює найбільш виражені прояви неспецифічних механізмів резистентності дихальної системи в ранні терміни розвитку алергічного запалення, які полягають в гіпертрофії і підвищенні кількості келихоподібних екзокриноцитів, підвищенні функціональної активності альвеолоцитів II типу, вмісту сурфактанта і активації коміркових макрофагоцитів. Така тенденція гістохімічних змін підтверджується дослідженнями інших вчених [24, 25, 33, 36].

Зіставлення досліджених морфометричних та ультрамікроскопічних змін дозволили виявити закономірність реакції структурних компонентів коміркових макрофагоцитів у відповідь на сенсibiliзацію та алергізацію овальбуміном. Ми спостігали збільшення кількості та функціональної активності коміркових макрофагоцитів морської свинки, починаючи з раннього періоду експериментального овальбумін-індукованого алергічного запалення. Результати нашого дослідження підтверджуються попередніми науковими даними, які постулюють коміркові макрофагоцити як один з найбільш реактивних компонентів респіраторного відділу легень при дії на них патогенів [13, 16, 41]. Вочевидь, підвищення кількості та функціональної активності коміркових макрофагоцитів у тварин 1-ої та 2-ої експериментальних груп можна вважати

первинною відповіддю місцевої імунної системи легень на альтеративно-ексудативне ураження тканини легень в ранньому періоді експериментального овальбумін-індукованого алергічного запалення, спричинене перш за все місцевими нейроендокринними механізмами [31, 36]. В подальшому, протягом пізнього періоду експерименту, при продовженні активного фагоцитозу у цитоплазмі коміркових макрофагоцитів спостерігалась деструкція органел, зростає кількість аутофаголізосом великого розміру та багатопухирцевих тілець, що свідчило про функціональні перенавантаження та «виснаження» коміркових макрофагоцитів, що в цілому співвідноситься з іншими морфологічними змінами компонентів тканини легень в пізньому періоді алергічного запального процесу [41]. Цікаво, що схожі ультрамікроскопічні зміни коміркових макрофагоцитів при дії на дихальну систему різних екзогенних чинників виявлені в наукових працях інших дослідників [6, 9, 41]. Даний факт свідчить про однотипність реакції з боку альвеолярних макрофагів як важливої ланки локального вродженого та адаптивного імунітету легень на різноманітні чинники екзогенного або ендогенного походження.

Вроджений імунітет, який відноситься до неспецифічного механізму захисту від численних патогенних мікробів, забезпечує негайне розпізнавання і реакцію на патогени. Мало відомо щодо ролі вродженого імунітету в патології алергічного запалення дихальних шляхів до недавнього відкриття вроджених лімфоїдних клітин (ILC - innate lymphoid cells) які продукують велику кількість цитокінів типу 2 при стимуляції цитокінами епітеліальних клітин дихальних шляхів (IL-25, IL-33, TSLP thymic stromal lymphopoietin) [20, 26, 35].

Цитокін IL-5 активує еозинофіли, сприяє підвищенню їх кількості і секреції ними цитокінів лейкотрієна C4 і активуючого тромбоцитарного фактора. Останні, в свою чергу, підвищують секрецію муцина келихоподібними клітинами і стимулюють скорочення гладком'язового компонента бронхів і кровоносних судин [40]. Даний факт є функціональним відображенням отриманих нами морфологічних змін у вигляді зростання кількості еозинофілів, збільшення

кількості і секреторної активності келихоподібних екзокриноцитів, посилення розвитку гладком'язової тканини бронхів та артеріол, звуження їх просвіту.

IL-13 стимулює гіперплазію келихоподібних клітин і секрецію слизу. Отримані нами результати морфометричного та електронномікроскопічного дослідження щодо гіперплазії та підвищеної секреторної активності келихоподібних екзокриноцитів підтверджуються даними науковими дослідженнями [28, 33, 35].

Ми вперше дослідили морфологічні прояви гіперреактивності стінки дихальних шляхів в хронобіологічному аспекті, що означає умовне виділення раннього та пізнього періодів розвитку алергічного запального процесу. Реакція тканинних компонентів бронхіальної стінки відображала закономірності компенсаторно-відновлювальних механізмів, які відбуваються при дії тих чи інших чинників та які зазнають структурні елементи дихальної системи. Виявлено факт потоншення слизової оболонки бронхів в ранньому періоді розвитку алергічного запального процесу в легенях на 23-тю і 30-ту доби спостереження. Одночасно при цьому в 1-ій та 2-ій експериментальних групах спостерігається потовщення м'язового шару слизової оболонки бронхів відповідно в 1,2 і в 1,4 рази, порівняно з контролем. Найсуттєвіше потовщення м'язової пластинки слизової оболонки бронхів виявляється протягом пізнього періоду розвитку алергічного запального процесу в легенях на 36-ту добу спостереження в 3-ій експериментальній групі, коефіцієнт збільшення 2,5.

Зіставлення виявлених морфологічних змін, підтверджених гістологічним, морфометричним та статистичним аналізом, дозволяє припустити закономірність реакції епітеліального, сполучнотканинного та гладком'язового компонентів стінки бронхів у відповідь на сенсibiliзацію та алергізацію овальбуміном. Ми демонструємо стадійний характер викликаних овальбуміном морфологічних змін у стінці бронхів: альтеративно-ексудативні - в ранньому періоді, та проліферативні – в пізньому періоді розвитку алергічного запалення. Зокрема, нами спостерігалась десквамація і деструкція епітеліального покриву на 23-тю, 30-ту і 36-ту доби спостереження. Потовщення стінки бронхів викликане

гіпертрофією м'язового шару, набряком сполучної тканини, потовщенням базальної мембрани епітеліального шару, лейкоцитарно-лімфоцитарною інфільтрацією. Подібна тенденція виявляється в дослідженнях інших науковців [7, 10, 38, 42].

Проведене дослідження також визначає закономірність морфологічних змін структурних елементів стінки малих бронхів і термінальних бронхіол. Найбільш значущі та реактивні зміни метричних показників стінки малих бронхів встановлені на 23-тю і 30-ту доби спостереження у вигляді потоншення слизової оболонки та на 36-ту добу та потовщення м'язового шару і адвентиційної оболонки. Факт потоншення дихальної слизової оболонки малих бронхів, на наш погляд, пов'язаний з альтеративними явищами в ранній період розвитку алергічного запалення дихальних шляхів, а саме деструкцією і десквамацією епітеліального шару. Гіпертрофія м'язової пластинки слизової оболонки малих бронхів є морфологічним підтвердженням розвитку бронхіальної гіперреактивності у результаті сенсibiliзації та алергізації овальбуміном, що також підтверджується звуженням просвіту бронхів, вірогідно внаслідок бронхоспазму. Збільшення товщини адвентиційної оболонки малих бронхів є підтвердженням розвитку запального процесу у сполучній тканині, і як наслідок – розвитку набряку строми і дезорганізації волокнистих елементів у сполучній тканині стінки бронхів. Подібна тенденція щодо морфологічних змін у бронхіолах спостерігається в роботах інших науковців [10, 36, 41]. Найбільш значимі зміни у термінальних бронхіолах, підтвержені статистично, виявлені на 36-ту добу експерименту у вигляді потовщення слизової та адвентиційної оболонок, що є наслідком гіпертрофії гладеньких міоцитів і набряку сполучнотканинної строми термінальних бронхіол. Схожі морфологічні зміни спостерігали інші вчені [24, 36]. Також слід відмітити різнонаправлену реакцію з боку слизової оболонки термінальних бронхіол у ранньому (потоншення) і пізньому (збільшення товщини) періодах розвитку алергічного запалення.

Проведене нами дослідження визначає закономірність змін клітинного складу епітелію малих бронхів і термінальних бронхіол в динаміці алергічного

запалення. Найбільш значущі реактивні морфометричні зміни встановлені на 23-тю і 30-ту доби спостереження у вигляді зменшення кількості основних та в'їчастих епітеліоцитів та зростання середньої кількості келихоподібних екзокриноцитів у складі епітелію малих бронхів, а також зменшення середньої кількості бронхіолярних екзокриноцитів у складі термінальних бронхіол. Це пов'язано, на наш погляд, з альтеративними явищами в ранній період розвитку алергічного запалення дихальних шляхів, а саме десквамацією епітеліального шару.

Гіпертрофія і гіперплазія келихоподібних клітин є морфологічним підтвердженням розвитку бронхіальної гіперреактивності у результаті дії алергена, що пов'язано насамперед з дією CGRP (calcitonin gene-related peptide) дихальних ендокриноцитів – прозапальних клітин. CGRP активує вроджені лімфоїдні клітини 2 типу, що узгоджується з даними інших авторів [25, 28, 33, 35]. Інший їх секреторний продукт нейротрансміттер - γ -аміномасляна кислота ГАМК, взаємодіючи з ІЛ-13, здійснює активацію секреції слиза келихоподібними клітинами. Вроджені лімфоїдні клітини при цьому виділяють велику кількість цитокінів типу 2 після стимуляції цитокінами епітеліоцитів слизової оболонки дихальних шляхів (ІЛ-25, ІЛ -33, TSLP) [33].

Бронхіолярні екзокриноцити виконують спеціалізовані функції, необхідні для захисту організму в нормальному стані, але зберігають здатність проліферації у відповідь на пошкодження. Вважаємо цю популяцію клітин факультативними клітинами-попередниками дистальних дихальних шляхів і респіраторного відділу легень, що узгоджується з науковими даними [28, 30, 32]. Саме бронхіолярні екзокриноцити забезпечують оновлення епітелію після пошкодження в'їчастих клітин та інших клітинних фенотипів, що ми показали протягом пізнього періоду алергічного запалення. Крім вищезазначеного, бронхіолярні екзокриноцити в легенях здійснюють також протизапальний імуномодулюючий вплив, продукують компоненти сурфактанта, а саме SP-A, SP-B, SP-D.

ВИСНОВКИ

1. При сенсibilізації та аероалергізації овальбуміном в легенях морської свинки розвивається еозинофільне запалення (збільшення кількості еозинофілів в 3,6 рази порівняно з контролем, $p^{***} < 0,05$), як морфологічний маркер реакції вродженої ланки імунітету на дію алергена. Найактивніше алергічне еозинофільне запалення розвивається в дистальних відділах дихальних шляхів (термінальні бронхіоли) і в інтерстиції легеневого ацинуса. Виявлений характер запального процесу, коли еозинофільна інфільтрація в легенях залишається навіть при відсутності дії алергена, є проявом порушення відновно-адаптаційних процесів у локальній вродженій імунній системі дихальних шляхів.

2. Виявлено, що сенсibilізація та алергізація овальбуміном експериментальних тварин викликають статистично значимі морфологічні зміни в ранньому періоді – альтеративного, в пізньому періоді алергічного запалення – адаптаційного характеру в клітинному складі малих бронхів і термінальних бронхіол. Підтвердженням розвитку гіперреактивності малих бронхів і термінальних бронхіол у експериментальних тварин є морфологічні маркери - гіпертрофія і гіперплазія келихоподібних клітин, які максимально виражені протягом раннього періоду розвитку алергічного запалення (в 2,6 рази порівняно з контролем, $p^{***} < 0,01$). виявлений факт потоншення дихальної слизової оболонки малих бронхів в ранньому періоді розвитку алергічного запального процесу в легенях на 23-тю і 30-ту доби спостереження за рахунок десквамації епітелію. Одночасно при цьому в 1-ій та 2-ій експериментальних групах спостерігається потовщення спіральної м'язової оболонки бронхів відповідно в 1,2 і в 1,4 рази, порівняно з контролем ($p^{***} < 0,05$).

3. Встановлено субмікроскопічні зміни аеро-гематичного бар'єру легень морських свинок внаслідок сенсibilізації та інгаляційної алергізації овальбуміном у вигляді десквамації коміркового епітелію, вогнищового оголення основної пластинки, потовщення міжмембранного простору, набряку цитоплазми ендотеліоциту з дезорганізацією його мікрофіламентів. Нами встановлені прояви

неспецифічних механізмів резистентності дихальної системи саме на ранніх стадіях розвитку алергічного запалення у вигляді підвищення функціональної активності пневмоцитів II типу, збільшення кількості сурфактанту та активації коміркових макрофагоцитів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Ahmed M., Hassanein K. Effect Of Melatonin In A Rat Model Of Allergic Lung Inflammation. / M. Ahmed, K. Hassanein // *Bulletin of Egyptian Society for Physiological Sciences*. -2014. - Vol. 34(2). - P. 237-248.
2. Akdis C. A. Type 2 immunity in the skin and lungs. / C. A. Akdis, P. D. Arkwright, M. C. Brüggemann, W. Busse, M. Gadina, M. Guttman-Yassky, K. Kabashima, Y. Mitamura, L. Vian, L. Wu, O. Palomares // *Allergy*. -2020. - Vol. 75(7). - P. 1582–1605.
3. Angeli P. Effects of chronic l-NAME treatment lung tissue mechanics, eosinophilic and extracellular matrix responses induced by chronic pulmonary inflammation / P. Angeli, C. M. Prado, D. G. Xisto, P. L. Silva, C. P. Pássaro, H. D. Nakazato, E. A. Leick-Maldonado, M. A. Martins, P. R. M. Rocco, I. F. L. C. Tibério // *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*. -2008. - Vol. 294(6). - P. L1197–L1205.
4. Antwi A. O. Stigmasterol modulates allergic airway inflammation in guinea pig model of ovalbumin-induced asthma / A. O. Antwi, D. D. Obiri, N. Osafo // *Mediators Inflamm*. -2017. - Vol 2953930.
5. Banno A., Bidirectional interaction of airway epithelial remodeling and inflammation in asthma. / T. Aravind, Lakshmi, P. Sowmya, C. Raju // *Clinical Science*. -2020. - Vol 134(9). P. 1063–1079.
6. Bissonnette E. Y. Cross-Talk Between Alveolar Macrophages and Lung Epithelial Cells is Essential to Maintain Lung Homeostasis. / E. Y. Bissonnette, J. F. Lauzon-Joset, J. S. Debley, S. F. Ziegler // *Frontiers in Immunology*. -2020. - Vol. 31(9). - P. 4117–4128.
7. Cai Z. Albiflorin alleviates ovalbumin (OVA)-induced pulmonary inflammation in asthmatic mice Liu. / Z. Cai, J. Liu, H. Bian // *American Journal of Translational Research*. -2019. - Vol. 11(12). - P. 7300–7309.
8. Dey P. Basic and Advanced Laboratory Techniques in Histopathology and Cytology. / P. Dey // In www.springer.com. Springer Singapore. -2018.

9. Draijer C. Distinctive Effects of GM-CSF and M-CSF on Proliferation and Polarization of Two Major Pulmonary Macrophage Populations. / C. Draijer, L. R. K. Penke, M. Peters-Golden // *The Journal of Immunology*. -2019. - Vol. 202(9). - P. 2700–2709.
10. Fang C. Downregulation of SUMF2 gene in ovalbumin-induced rat model of allergic inflammation. / C. Fang, X. Li, H. Liang, L. Xue, L. Liu, C. Yang, G. Gao, X. Jiang // *International journal of clinical and experimental pathology*. -2015. – Vol. 8(10). - P. 12053–12063.
11. Halim T. Y. F. Group 2 Innate Lymphoid Cells Are Critical for the Initiation of Adaptive T Helper 2 Cell-Mediated Allergic Lung Inflammation. / T. Y. F. Halim, C. A. Steer, L. Mathä, M. J. Gold, I. Martinez-Gonzalez, K. M. McNagny, A. N. J. McKenzie, F. Takei // *Immunity*. -2014. - Vol. 40(3). - P. 425–435.
12. Hrebniak M. P., Fedorchenko R. A. Influence of industrial atmospheric pollution on the development of pathology of respiratory organs. / M. P. Hrebniak, R. A. Fedorchenko // *Pathologia*. -2019.- Vol. 16(1).
13. Hume P. S. Localization of Macrophages in the Human Lung via Design-based Stereology. / P. S. Hume, S. L. Gibbings, C. V. Jakubzick, R. M. Tuder, D. Curran-Everett, P. M. Henson, B. J. Smith, W. J. Janssen // *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. -2020. – Vol. 201(10). - P. 1209–1217.
14. Hylkema M. N. The strength of the OVA-induced airway inflammation in rats is strain dependent. / M. N. Hylkema, M. O. Hoekstra, M. Luinge, W. Timens // *Clinical Experimental Immunology*. -2012. – Vol. 129(3). - P. 390–396
15. Iikutani M., Takatsu K. Roles of IL-5-producing group 2 innate lymphoid cells in eosinophil regulation. / M. Iikutani, K. Takatsu // *Inflammation and Regeneration*. -2014. - Vol. 34(3). – P. 140–148.
16. Joshi N. Alveolar Macrophages. / N. Joshi, J. M. Walter, A. V. Misharin // *Cellular Immunology*. -2018. – Vol (330). – P. 86–90.
17. Katoh S. Critical Involvement of CD44 in T Helper Type 2 Cell-Mediated Eosinophilic Airway Inflammation in a Mouse Model of Acute Asthma. / S.Katoh // *Frontiers in Immunology*. -2022. - Vol. 12.

18. Kiboneka A., Kibuule D. The Immunology of Asthma and Allergic Rhinitis. Rhinosinusitis. / A. Kiboneka, D. Kibuule // *Rhinosinusitis*. -2019.
19. Klein Wolterink R. G. J., Pirzgalska R. M., Veiga-Fernandes H. Neuroendocrine Cells Take Your Breath Away. / R. G. J Klein Wolterink, R. M. Pirzgalska, H. Veiga-Fernandes // *Immunity*. -2018. – Vol. 49(1). – P. 9–11.
20. Klose C. S. N., Artis D. Innate lymphoid cells as regulators of immunity, inflammation and tissue homeostasis. / C. S. N. Klose, D. Artis // *Nature Immunology*. -2016. – Vol. 17(7). – P. 765–774.
21. Lambrecht B. N., Hammad H. The immunology of asthma. / B. N. Lambrecht, H. Hammad // *Nature Immunology*. -2014. – Vol. 16(1). – P. 45–56.
22. Li S. Epithelium-generated neuropeptide Y induces smooth muscle contraction to promote airway hyperresponsiveness. / C. Koziol-White Jude, M. Jiang, H. Zhao, G. Cao, E. Yoo, W. Jester, M. P. Morley, S. Zhou, Y. Wang, M. M. Lu, R. A. Panettieri, E.E. Morrissey // *Journal of Clinical Investigation*. -2016. – Vol. 126(5). – P. 1978–1982.
23. Li Y.-L. Thymic Stromal Lymphopoietin Promotes Lung Inflammation Through Activation of Dendritic Cells. / Y.-L Li, X. Zhang, R. Wang, J. -Q. Hao, W. -X. Bi, L. Dong // *Journal of Asthma*. -2010. – Vol. 47(2). – P. 117–123.
24. Löser S., Maizels R. M. Immunology: The Neuronal Pathway to Mucosal Immunity. / S. Löser, R. M. Maizels // *Current Biology*. -2018. – Vol. 28(1). - R. 33–R. 36.
25. Lytvynets L. Ya. Assessment of immunological disorders in the genesis of bronchial asthma in children with different degrees of the diseases controllability. / U. Ye. Lytvynets-Golutyak, V. V. Chopyak // *World of Medicine and Biology*. -2018. – Vol. 14(64).
26. McKenzie A. N. J. Type-2 Innate Lymphoid Cells in Asthma and Allergy. / A. N. J. McKenzie // *Annals of the American Thoracic Society*. -2014. – Vol. 11(Supplement 5). – P. 263–270.
27. Nebesna Z. M. Submicroscopic changes of alveoli of respiratory department of lungs a day after experimental thermal trauma. / Z. M. Nebesna, O. I.

Bashynska, N. P. Ocheretna, G. M. Galunko, O. Ya. Slyvka // *Вісник морфології*. - 2019. – Vol. 25(3). – P. 16–20.

28. Nolin J. D. Secreted PLA2 group X orchestrates innate and adaptive immune responses to inhaled allergen. / J. D. Nolin, Y. Lai, H. L. Ogden, A. M. Manicone, R. C. Murphy, D. An, C. W. Frevert, F. Ghomashchi, G. S. Naika, M. H. Gelb, G. M. Gauvreau, A. M. Piliponsky, W. A. Altemeier, T. S. Hallstrand // *JCI Insight*. -2017. – Vol. 2(21).

29. Popko S. S. Morphological rearrangement of the metabolic link of the microcirculatory bed of guinea pigs lungs after sensitization with ovalbumin. / S. S. Popko // *Current Issues in Pharmacy and Medicine: Science and Practice*.-2021. – Vol.14(1). – P. 79–83.

30. Popko S. S. Influence of pulmonary neuroendocrine cells on lung homeostasis. / S. S. Popko, V. M. Evtushenko, V. K. Syrtsov // *Zaporozhye Medical Journal*. -2020. – Vol. 22(4(121)). – P. 568–575.

31. Prado C. M. Different Modulators of Airways and Distal Lung Parenchyma Contractile Responses in the Physiopathology of Asthma. / C. M. Prado, E. A. Leick, F. D. T. Q. d. S. Lopes, M. A. Martins, I. de Fátima Lopes Calvo Tibério // In (Ed.), *Current Basic and Pathological Approaches to the Function of Muscle Cells and Tissues - From Molecules to Humans*. IntechOpen. -2012.

32. Rokicki W. The role and importance of club cells (Clara cells) in the pathogenesis of some respiratory diseases. / W. Rokicki, M. Rokicki, J. Wojtacha, A. Dželjijli // *Polish Journal of Cardio-Thoracic Surgery*. -2016. – Vol. (1). – P. 26–30.

33. Rose C. E. Murine lung eosinophil activation and chemokine production in allergic airway inflammation. / C. E. Rose, J. A. Lannigan, P. Kim, J. J. Lee, S. M. Fu, S. J. Sung // *Cellular & Molecular Immunology*. -2010. – Vol. 7(5). – P. 361–374.

34. Singh B Strain-specific differences in perivascular inflammation in lungs in two murine models of allergic airway inflammation. / B. Singh, K. Shinagawa, C. Taube, E. W. Gelfand, R. Pabst // *Clinical and Experimental Immunology*. -2005. – Vol. 141(2). – P. 223–229.

35. Sokol C. L. The Chemokine System in Innate Immunity. / C. L. Sokol, A.

- D. Luster // *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. -2015. – Vol. 7(5). - a016303.
36. Sui P. Pulmonary neuroendocrine cells amplify allergic asthma responses. / P. Sui, D. L. Wiesner, J. Xu, Y. Zhang, J. Lee, S. Van Dyken, A. Lashua, C. Yu, B. S. Klein, R. M. Locksley, G. Deutsch, X. Sun // *Science*. -2018. – Vol. 360(6393). eaan8546.
37. Vasconcelos L. H. C. A. Guinea Pig Model of Airway Smooth Muscle Hyperreactivity Induced by Chronic Allergic Lung Inflammation: Contribution of Epithelium and Oxidative Stress. / L. H. C. A. Vasconcelos, M. da. C. C. Silva, A. C. Costa, G. A. de. Oliveira, I. L. L. de. Souza, F. R. Queiroga, L. C. da. C. Araujo, G. A. Cardoso, R. F. Righetti, A. S. Silva, P. M. da Silva, C. R. de. O. Carvalho, G. C. Vieira, I. de F. L. C. Tibério, F. de A. Cavalcante, B. A. da Silva // *Frontiers in Pharmacology*. -2019. – Vol. (9). – P. 1547.
38. Vasconcelos L.H.C. A guinea pig model of airway smooth muscle hyperreactivity induced by chronic allergic lung inflammation: contribution of epithelium and oxidative stress. / L. H. C. Vasconcelos, M. da Conceição Correia Silva, A. C. Costa, G. A. de Oliveira, I. L. L. de Souza, F. R. Queiroga, B. A. da Silva // *Front Pharmacol*. -2019. - Vol. (9).
39. Vroman H. Development of eosinophilic inflammation is independent of B-T cell interaction in a chronic house dust mite-driven asthma model. / H. Vroman, I. M. Bergen, B. W. S. Li, J. A. C. van Hulst, M. Lukkes, D. van Uden, R. W. Hendriks, M. Kool // *Clinical & Experimental Allergy*. -2016. – Vol. 47(4). – P. 551–564.
40. Wilson S. J. The relationship between eosinophilia and airway remodelling in mild asthma. / S. J. Wilson, H. M. Rigden, J. A. Ward, M. Laviolette, N. N. Jarjour, R. Djukanović // *Clinical & Experimental Allergy*. -2013. – Vol. 43(12). – P. 1342–1350.
41. Zaiats L. M, Klishch I. P. Ultrastructure of alveolar macrophages in case of experimental acute renal failure. / L. M. Zaiats, I. P. Klishch // *Світ медицини та біології*. -2018. – Vol. 14(63). – P. 130.
42. Zemmouri H. Urtica dioica attenuates ovalbumin-induced inflammation and lipid peroxidation of lung tissues in rat asthma model. / H. Zemmouri, O. Sekiou, S.

Ammar, A. El Feki, M. Bouaziz, M. Messarah, A. Boumendjel // *Pharm. Biol.* -2017. – Vol. 55(1) 156. – P. 1-1568.