

УДК 616.233–092.9: 613.83

© Колектив авторів, 2013

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ У БРОНХАХ ЩУРІВ ПІСЛЯ ВПЛИВУ ХРОНІЧНОЇ ІММОБІЛІЗАЦІЇ

М. М. Коптев, О. М. Проніна, С. І. Данильченко, Д. Є. Ніколенко, Л. С. Зюзіна

Кафедра оперативної хірургії та топографічної анатомії (зав. – д. мед. н., проф. Проніна О. М.) ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія». 36024 Україна, м. Полтава, вул. Шевченко, 23. E-mail: mn_koptev@ukr.net

MORPHOFUNCTIONAL CHANGES IN BRONCHIAL TUBES OF RATS EFFECTED BY CHRONIC IMMOBILIZATION

M. N. Koptev, E. N. Pronina, S. I. Danilchenko, D. E. Nikolenko, L. S. Zuzina

SUMMARY

The purpose of the research was to analyze a morpho-functional changes in bronchial tubes of white rats of Wistar line after the effect of chronic immobilizing stress. The experiment has been carried out on 40 white male rats of Wistar line, 20 of which have been affected by experimental stress, and 20 were in control group. After exposing the chest and macroscopic examining of its organs, pulmonary tissues were sampled for histological study. The experimental chronic immobilizing stress provokes the development of bronchospasm, destructive changes of walls with signs of inflammatory infiltration, hemorrhages and thickening of mucous membrane in small-sized and medium-sized bronchial tubes of rats of Wistar line. In response of prolonged bronchospasm, areas in lungs, in which alveoli are getting narrow in diameter or fully deflate, appear. Such changes may provoke the origination and development of respiratory apparatus diseases.

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В БРОНХАХ КРЫС ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ ИММОБИЛИЗАЦИИ

М. Н. Коптев, Е. Н. Пронина, С. И. Данильченко, Д. Е. Николенко, Л. С. Зюзина

РЕЗЮМЕ

Целью исследования было изучение морфофункциональных изменений в бронхах белых крыс линии Вистар после воздействия хронического иммобилизационного стресса. Эксперимент был выполнен на 40 белых крысах-самцах линии Вистар, из которых 20 подвергались воздействию экспериментального стресса, а 20 составляли контрольную группу. После забоя животных проводился макроскопический осмотр органов грудной клетки и гистологическое исследование. Было установлено, что экспериментальный хронический иммобилизационный стресс вызывает в мелких и средних бронхах явления бронхоспазма, деструктивные изменения стенок с явлениями воспалительной инфильтрации, кровоизлияниями и утолщением слизистой оболочки. В ответ на длительный бронхоспазм в лёгких локально возникают участки, где альвеолы уменьшаются в диаметре или полностью спадаются. Такие изменения могут способствовать возникновению и развитию заболеваний органов дыхания.

Ключові слова: легені, морфологія, стрес, щури.

Захворювання органів дихання є актуальною медичною проблемою. Зокрема, зростання рівня хронічних обструктивних захворювань легень у більшості промислових країн світу, до яких належить і наша держава, викликає особливе занепокоєння. Ця патологія діагностована у 4–6% дорослого населення Європи. Ознаки бронхіальної обструкції спостерігаються у понад 10% дорослих європейців. За прогнозами ВООЗ кількість смертей, обумовлених хронічним обструктивним захворюванням легень, до 2020 року становитиме близько 4,7 млн. випадків на рік [5]. Серед причин виникнення та розвитку даної патології провідну роль відводять негативній дії інгаляційних патогенних часточок або газів на перебіг запальних процесів у бронхах [1]. Проте активність процесу також залежить від додаткового впливу інших чинників, серед яких виділяють стреси. Стресорні фактори викликають зміни у системі гомеостазу організму, у відповідь на які розвиваються стресові реакції, спрямовані на відновлення гомеостатичної рівноваги. Стресові реакції супроводжуються виділенням глюкокортикоїдів, мобілізацією енергії для зростання активності м'язів, підвищенням тонуусу серцево-судинної

системи, полегшенням транспорту кисню. Однак, такі реакції можуть стати основою виникнення і розвитку низки патологічних процесів у організмі [3, 4, 6].

Метою дослідження було вивчення морфофункціональних змін у бронхах білих щурів лінії Вистар після впливу експериментального хронічного иммобілізаційного стресу.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Дослідження виконане на 40 білих щурах-самцях лінії Вистар, вік яких становив 8–10 місяців. Маса піддослідних тварин складала 240–260 грамів. 20 щурів склали основну, експериментальну групу, яка зазнала впливу експериментального хронічного иммобілізаційного стресу. Стресову модель відтворювали протягом 21 дня шляхом щоденної 40-хвилинної фіксації щурів за кінцівки без здавлювання у положенні лежачи на спині. Другу, контрольну групу, складала 20 аналогічних інтактних щурів, які утримувалися у стандартних умовах виварію академії і не були залучені до проведення ніяких експериментальних досліджень.

Забій щурів проводили зранку натщесерце на 22 добу

експерименту. Декапітацію виконували під внутрішньоочеревинним тіопентал-натрієвим наркозом. Після розкриття грудної клітки та макроскопічного огляд її органів, проводився забір матеріалу. Для гістологічного дослідження легені щурів фіксували у 10% нейтральному розчині формаліну. Окремі шматочки легеневої тканини із центральних та периферійних відділів фіксували у 4% холодному розчині глутарового альдегіду для виготовлення напівтонких зрізів. Після відповідного проведення через спирти зростаючої концентрації, шматочки легень поміщали в парафін за звичайною методикою [2]. Мікротомні зрізи забарвлювали гематоксилін-еозин, за Хартом-Ван-Гізоном та Маллорі. Напівтонкі зрізи забарвлювали 0,1% розчином толуїдинового синього на фосфатному буфері при рН 7,8.

Уся експериментальна частина дослідження була проведена згідно з вимогами міжнародних принципів „Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експерименті та інших наукових цілях“ (Страсбург, 1985 р.) та відповідного закону України „Про захист тварин від жорстокого поводження“ (№ 3446-IV від 21.02.2006 р., м. Київ).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Проведений після розкриття грудної клітки щура макроскопічний огляд показав, що у піддослідних щурів трахея та головні бронхи за зовнішнім виглядом не відрізнялися від контрольної групи. Легені щурів експериментальної групи були значно збільшені в об'ємі, роздуті. Їхні краї прикривали переднє середостіння. Вісцеральна плевро обох легень була гладенькою і блискучою. Легеневі поверхні мали блідо-рожеве забарвлення, подекуди під вісцеральною плеврою визначалися точкові крововиливи, кількість яких збільшувалася на діафрагмовій поверхні. На дотик паренхіма легень була м'якою. Після видалення із грудної клітки легені не спадалися.

Після розтину трахеї та головних бронхів щурів експериментальної групи у їхньому просвіті було виявлено значну кількість світлого слизового ексудату. Слизова оболонка трахеї та головних бронхів мала рожеве забарвлення. Під час розрізу легеневої тканини відмічався хрускіт, із ранової поверхні стівав ексудат слизового характеру. Внутрішньолегеневі бронхи були розширені та заповнені світлим слизовим ексудатом. Їхня слизова оболонка мала рожеве забарвлення з ділянками поодинокими точковими крововилив.

Гістологічне дослідження легень щурів, після відтворення експериментальної моделі хронічного іммобілізаційного стресу, встановило значне розширення альвеол, стоншення та деформацію міжальвеолярних перегородок з ділянками руйнування та утворенням сполучень між сусідніми альвеолами. Локально визначалися ділянки потовщення міжальвеолярних перегородок, що призводило до зменшення просвіту альвеол, які мали сплюснену форму. У розширених мікросудинах відмічались явища стазу крові, вони були заповнені форменими елементами.

У бронхах середнього калібру щурів експериментальної групи були виявлені деструктивні зміни: вакуолізація

цитоплазми епітеліоцитів, руйнування міжклітинних контактів, втрата цілісності епітеліального шару. У просвітах цих бронхів виявлялися еритроцити і клітинний детрит. Сполучна тканина власної пластинки виявляла ознаки гіпергідратації та містила лімфолейкоцитарні інфільтрати. Також визначалося потовщення сполучнотканинної основи складок слизової оболонки за рахунок проліферативних процесів і посилення колагенування (рис. 1).

Проведене морфометричне дослідження встановлено вірогідне збільшення середніх значень товщини епітеліального шару слизової оболонки середніх бронхів піддослідних щурів на 38,5% (з $13,26 \pm 0,53$ мкм до $18,37 \pm 0,94$, $p < 0,01$) у лівій легені та на 36,9% (з $13,31 \pm 0,49$ мкм до $18,22 \pm 0,82$, $p < 0,01$) у правій, порівняно з контрольною групою, що на нашу думку відбулося за рахунок дистрофічних процесів і набухання епітеліоцитів.

У дрібних бронхах щурів експериментальної групи визначалося зменшення просвітів, які набували неправильної сплюсненої, іноді щілиноподібної форми. Також виявлялися ділянки десквамації епітеліоцитів; злущені клітини у вигляді детриту визначалися у просвітах бронхів (рис. 2). Поряд із спазмованими бронхами локалізувалися альвеоли із зменшеним просвітом, або в стані спадання.

Морфометричне вивчення товщини епітелію слизової оболонки дрібних бронхів у щурів експериментальної групи показало зростання цього показника, порівняно з контрольною групою, у лівій легені на 42% (з $8,88 \pm 0,40$ до $12,61 \pm 0,56$, $p < 0,01$) та на 43,7% у правій (з $8,74 \pm 0,38$ до $12,56 \pm 0,58$, $p < 0,01$).

На зрізах, забарвлених за Хартом-Ван Гізоном, визначалося потовщення еластичного каркасу в середній оболонці дрібних бронхів (рис. 3).

М'язова пластинка бронхів щурів експериментальної групи була потовщеною з ознаками набряку.

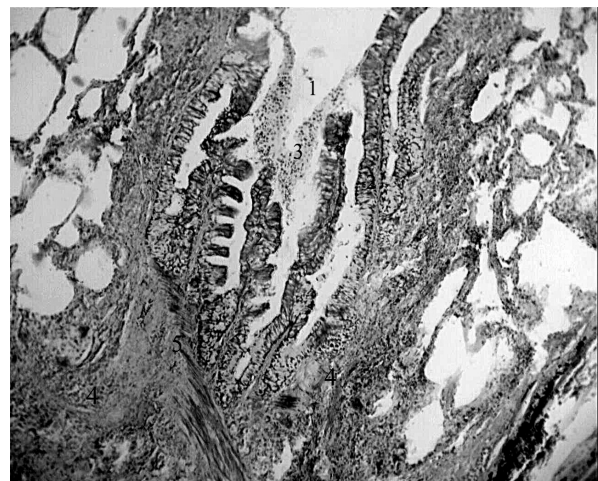


Рис. 1. Бронх щура після відтворення експериментальної моделі хронічного іммобілізаційного стресу: 1 – просвіт бронха; 2 – епітелій; 3 – клітинний детрит у просвіті бронха; 4 – лейкоцитарна інфільтрація; 5 – власна пластинка слизової оболонки бронха. Забарвлення за Маллорі: Об.: 40: Ок.: 15

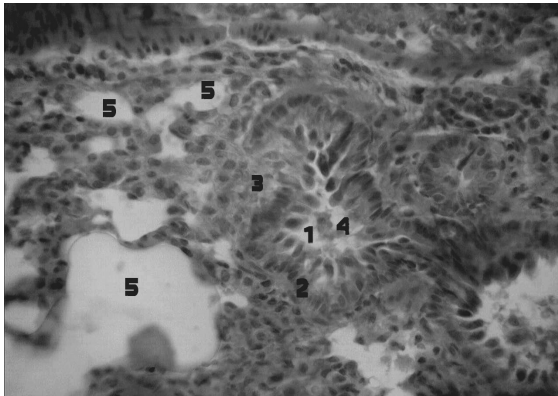


Рис. 2. Дрібний бронх щура після відтворення експериментальної моделі гострого іммобілізаційного стресу: 1 – просвіт дрібного бронха; 2 – епітелій слизової оболонки бронха; 3 – власна пластинка слизової оболонки дрібного бронха; 4 – десквамація епітеліоцитів; 5 – альвеола. Забарвлення гематоксилін-еозин: Об.: 40: Ок.:15

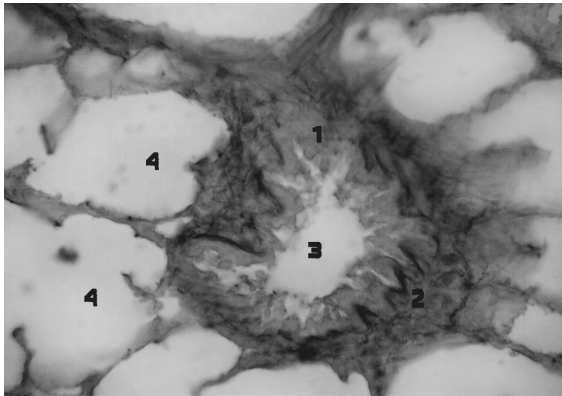


Рис. 3. Еластичні волокна в стінці дрібного бронха щура після відтворення експериментальної моделі хронічного іммобілізаційного стресу: 1 – стінка бронха; 2 – еластичні волокна; 3 – просвіт бронха; 4 – альвеола. Забарвлення за Хартон – Ван Гізоном: Об.: 40: Ок.:15

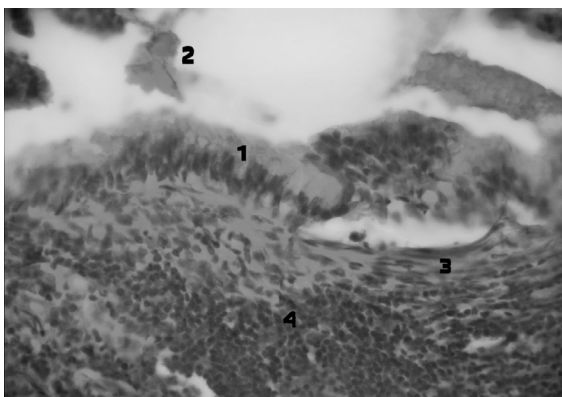


Рис. 4. Бронх щура після відтворення експериментальної моделі хронічного іммобілізаційного стресу: 1 – епітелій слизової оболонки бронха; 2 – клітинний детрит у просвіті бронха; 3 – м'язова пластинка слизової оболонки бронха; 4 – скупчення лімфоцитів. Забарвлення гематоксилін-еозин: Об.: 100: Ок.:15

У підслизовій основі виявлялися численні скупчення лейкоцитів, у складі яких переважали лімфоцити і плазмоцити, що свідчило про напруження місцевого захисного бар'єру легень у відповідь на вплив хронічного іммобілізаційного стресу (рис. 4).

У перибронхіальній сполучній тканині виявлялися гемомікросудини, просвіти яких були щільно заповнені еритроцитами. Останні визначалися і в просвітах бронхів.

У щурів контрольної групи подібні зміни у бронхах не визначалися.

ВИСНОВКИ

Хронічний іммобілізаційний стрес має виражений несприятливий вплив на дихальну систему щурів лінії Вістар. Просвіт дрібних та середніх бронхів звужується за рахунок бронхоспазму; у їхніх стінках відмічаються деструктивні зміни з явищами запальної інфільтрації, крововиливами та потовщенням слизової оболонки. У відповідь на тривалий бронхоспазм у легенях локально визначаються ділянки легеневої тканини, де альвеоли мають зменшений діаметр або повністю спадаються.

Перспективи подальших досліджень. Перспективним, на нашу думку, вбачається вивчення змін у слизовій оболонці бронхів щурів, які виникають під впливом стресу на ультраструктурному рівні.

Робота виконана в рамках науково-дослідної теми кафедри медицини надзвичайних ситуацій з оперативною хірургією і топографічною анатомією Вищого державного навчального закладу України «Українська медична стоматологічна академія» «Визначення закономірностей морфогенезу органів, тканин та судинно-нервових утворень організму в нормі, експерименті та під дією зовнішніх чинників. Морфоекспериментальне обґрунтування дії нових хірургічних шовних матеріалів при використанні їх в клінічній практиці», № держ. реєстрації 0113U001024.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бойко Д. М. Модель хронічного обструктивного захворювання легень/Д. М. Бойко, М. Г. Бойко, О. С. Бойко//Вісник проблем біології і медицини. – 2011. – № 2. – Т. 1. – С. 109–113.
2. Волкова О. В. Основы гистологии с гистологической техникой/О. В. Волкова, Ю. К. Елецкий. – М.: Медицина, 1971. – 272 с.
3. Козлова А. Н. Структурно-функциональная характеристика респираторных отделов лёгких при воздействии стрессорных факторов и окситоцина/А. Н. Козлова//Морфологические ведомости. – 2012. – № 3. – С. 34–40.
4. Селье Г. Стресс без дистресса/Селье Г. – М.: Медицина, 1974. – 52 с.
5. Фещенко Ю. И. Актуальные вопросы хронического обструктивного заболевания лёгких/Ю. И. Фещенко//Укр. пульм. журнал. – 2010. – № 1. – С. 6.
6. Gorban A. N. Law of the minimum paradoxes/A. N. Gorban, L. I. Pokidysheva, E. V. Smirnova [et al.]//Bull. Math. Biol. – 2011. – Vol. 73, № 9. – P. 2013–2044.