

УДК 616.24-018:577.118:616.379-008.64]-092.9

Вплив експериментального алоксанового діабету на морфологію легневих структур щурів віку прогресивного росту
Т.П. Теслик

Сумський державний університет, медичний інститут

Вступ. За даними сучасної літератури [1-3] будова органів дихання вивчена досить досконало. Але, незважаючи на те, що вплив екзогенних та ендогенних факторів на легені – це давня проблема, залишається багато невивчених питань щодо структурних змін легень за дії багатьох чинників. Достатньо речовин, які впливають на органи дихання, надходять і не через повітря, наприклад через шлунково-кишковий тракт або під впливом патологічних станів (хвороб), що відображається у нових наукових експериментах [4-11].

Одним з актуальних чинників є цукровий діабет, який на сьогоднішній день займає третє місце після хвороб серцево-судинної системи та онкологічних захворювань. Загальновідомі патологічні зміни у органах-мішенях при хронічній гіперглікемії, але залишаються невивчені при цьому легневій структурі [12].

Тому, в нашій роботі ми проводили дослідження структур легень, а саме: товщини міжальвеолярної перетинки та ширини провідного відділу термінальної бронхіоли у щурів молодого віку.

Мета роботи - дослідити зміни структур легеневої тканини щурів прогресивного росту за умов експериментального алоксанового діабету.

Матеріали і методи. Дослідження проведені на 48 білих лабораторних щурах обох статей, масою $170,1 \pm 0,13$ г. Тварини були розділені наступним чином на групи (в кожній знаходилось по 6 особин) – 1-ша з терміном алоксанового діабету 90 діб, 2-га – 120 діб, 3-тя – 150 діб, 4-та – 180 діб. Кожна вищевказана експериментальна група порівнювалась з відповідною інтактною (Табл.1).

Таблиця 1

Розподіл експериментального матеріалу

Термін дослідження	Кількість	Кількість інтактних
--------------------	-----------	---------------------

	експериментальних тварин	тварин
3 місяці	6	6
4 місяці	6	6
5 місяців	6	6
6 місяців	6	6
Всього по групам	48	

Щурі утримувались в умовах віварію кафедри морфології Медичного інституту СумДУ. Перед початком досліджень кожна група щурів проходила двотижневу карантинізацію. Тварини доглядалися згідно загальноприйнятих рекомендацій, вимог та положень щодо догляду за лабораторними тваринами («Правила проведення робіт з використанням експериментальних тварин», додаток 4, затверджений наказом Міністерства охорони здоров'я № 755 від 12 серпня 1997 р., «Про заходи щодо подальшого удосконалення організаційних форм роботи з використанням експериментальних тварин»; «Загальні етичні принципи експериментів на тваринах», ухвалені Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.); правила, затверджені комісією з питань біоетики Медичного інституту Сумського державного університету (протокол № 4 від 22 грудня 2009 р.; Хельсинська декларація Генеральної асамблеї Всесвітньої медичної асоціації (2000); положення «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985). Порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідницької роботи не було.

Для експериментального моделювання гіперглікемії, яка обумовлюється абсолютною недостатністю інсуліну в організмі, ми використовували хімічну сполуку – алоксан. Після 24-годинного голодування на тлі нормальних показників крові тваринам вводили підшкірно розчин дигідрату алоксану в дозі 20мг на 100г ваги в 0,1М цитратному буфері (рН 4,0). Щурі у відповідних вікових групах знаходились в стані хронічної гіперглікемії від 30 до 180 доби (вік тварин – від 3 до 8 місяців). Забій шести щурів кожної вікової групи

проводили кожні 30 днів шляхом розтину грудної клітини під внутрішньоочеревинним тіопентал-натрієвим наркозом.

Досліджували легеневу тканину, використовуючи гістологічне дослідження з забарвленням по Ван-Гізон, сканувальну електронну мікроскопію з морфометрією, яку проводили за допомогою програми Digimizer 2007. Вимірювали товщину міжальвеолярної перетинки у середній, найтоншій та найтовшій ділянках з наступним розрахунком середнього розміру, ширину провідного відділу термінальної бронхіоли. Крім того, визначали рівень глюкози венозної крові за допомогою глюкозооксидазного тесту та глікозильованого гемоглобіну (HbA1c) на 90 добу експерименту для підтвердження наявності у тварин цукрового діабету. Усі отримані числові показники підлягали статистичній обробці з використанням персонального комп'ютера Acer та ліцензійованої програми-редактора електронних таблиць Excel XP пакета Microsoft Office 2013.

Обговорення результатів дослідження.

Проводячи аналіз отриманих даних щурів інтактної групи у розрізі їх вікових змін (проводили дослідження щурів молодого віку з п'яти до восьми місяців), можна зробити висновки, що з віком товщина міжальвеолярної перетинки (ТМП) та ширина провідного відділу респіраторної бронхіоли (ШПБ) збільшуються (Рис.1).

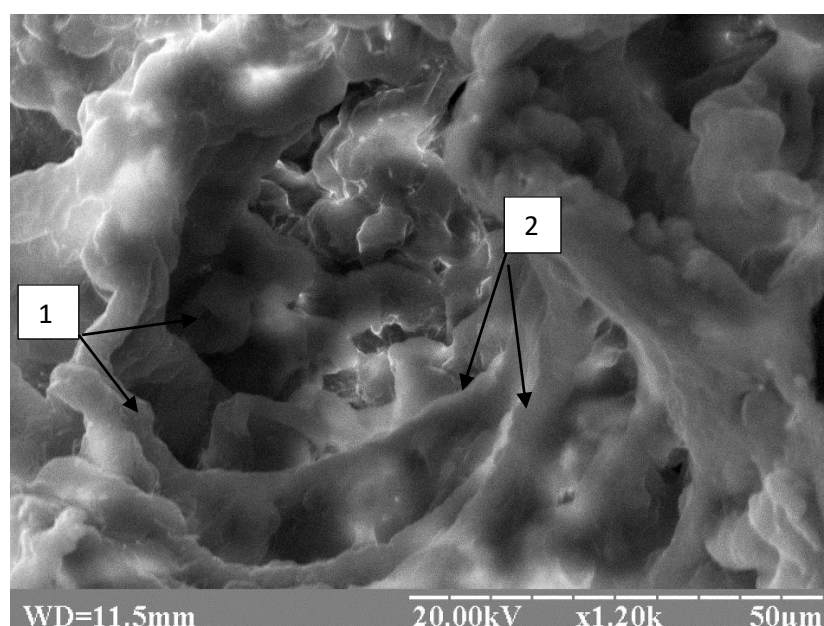


Рис.1. Легенева тканина молодого щура інтактної групи (6 міс.).
Сканувальна електронномікроскопічна фотографія. $\times 1200$.

- 1 - порожнина альвеоли;
2 - міжальвеолярні перетинки.

Таблиця 2

Результати дослідження легень та лабораторні показники крові щурів молодого віку за умов експериментальної хронічної гіперглікемії

($M \pm m$), n=6

Показни к	Інтактні щурі	90 діб ЦД	Інтактні щурі	120 діб ЦД	Інтактні щурі	150 діб ЦД	Інтактні щурі	180 діб ЦД
ШПБ, мкм	60,02 $\pm 0,4$	63,54* $\pm 0,5$	61,01 $\pm 0,7$	70,35* $\pm 0,9$	67,04 $\pm 0,8$	78,01* $\pm 0,5$	67,91 $\pm 0,5$	95,02* $\pm 0,6$
ТМП, мкм	5,4 $\pm 0,1$	7,03* $\pm 0,1$	5,4 $\pm 0,1$	8,0* $\pm 0,04$	6,08 $\pm 0,2$	9,02* $\pm 0,04$	6,1 $\pm 0,1$	15,02* $\pm 0,04$
ГК,ммоль /л	5,4 $\pm 1,3$	8,3* $\pm 0,3$	3,5 $\pm 0,1$	8,5* $\pm 0,1$	6,0 $\pm 0,1$	8,7* $\pm 0,1$	6,3 $\pm 0,1$	8,1* $\pm 0,1$
НьА1С,%	4,7 $\pm 0,6$	8,1* $\pm 0,3$	4,0 $\pm 0,04$	8,6* $\pm 0,1$	4,5 $\pm 0,04$	8,3* $\pm 0,1$	5,1 $\pm 0,1$	7,05* $\pm 0,1$

Примітка: * $p \leq 0,001$

Числові показники рівня глюкози крові у тварин, що перебували в експерименті коливались від 8,1ммоль/л до 8,7ммоль/л, що свідчить про наявність гіперглікемії. Показники рівня глікозильованого гемоглобіну у них коливались від 7,05% до 8,6%, що вище нормальних показників практично у 2 рази і дає право стверджувати наявність цукрового діабету.

З 90 доби алоксанового діабету ТМП у порівнянні з інтактними щурами збільшується на 30% ($p \leq 0,001$). Протягом експерименту зберігається така тенденція – зі збільшення терміну цукрового діабету відбувається потовщення МП. Зростання показника з 90 по 180 добу тривання хронічної гіперглікемії відбувається у 2 рази.

В ході експерименту на 90 добу відмічаються ознаки бронходилатації, що статистично достовірно у порівнянні з інтактною групою (Рис.2). Також простежується наступна тенденція: зі збільшення терміну експериментального цукрового діабету, збільшується і ширина ПБ. Якщо на 90 добу експерименту ШПБ становить $63,54 \pm 0,51$ мкм, то вже на 180 – $95,02 \pm 0,6$ мкм (зростання показника на 49,5% ($p \leq 0,001$)).

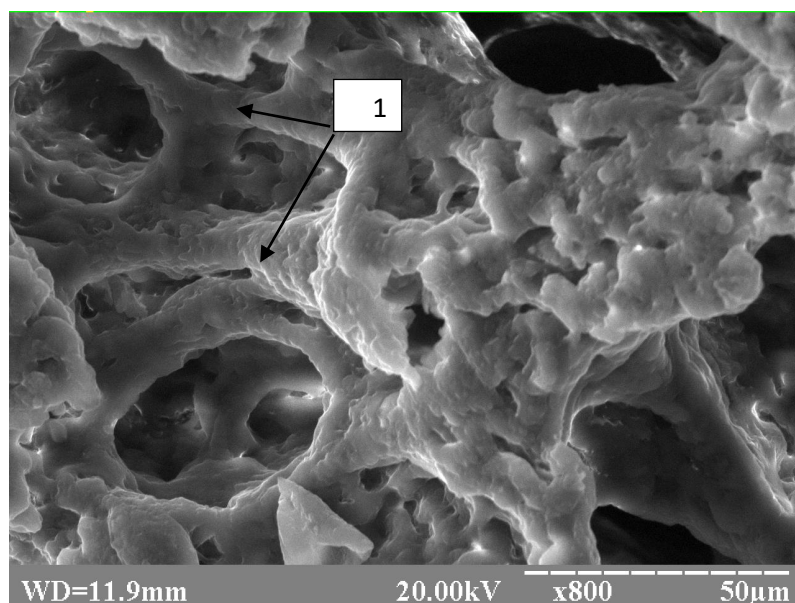


Рис.2. Легенева тканина щура молодого віку на 120 добу експерименту. Сканувальна електронномікроскопічна фотографія. $\times 800$.

1 – термінальні бронхіоли.

Збільшення ТМП можна пов'язати зі збільшенням кількості **колагенових** волокон, які є в її складі, що відбувається у інтактних щурів при дорослішанні, а в умовах експериментального алоксанового діабету цей процес посилюється (Рис.3).

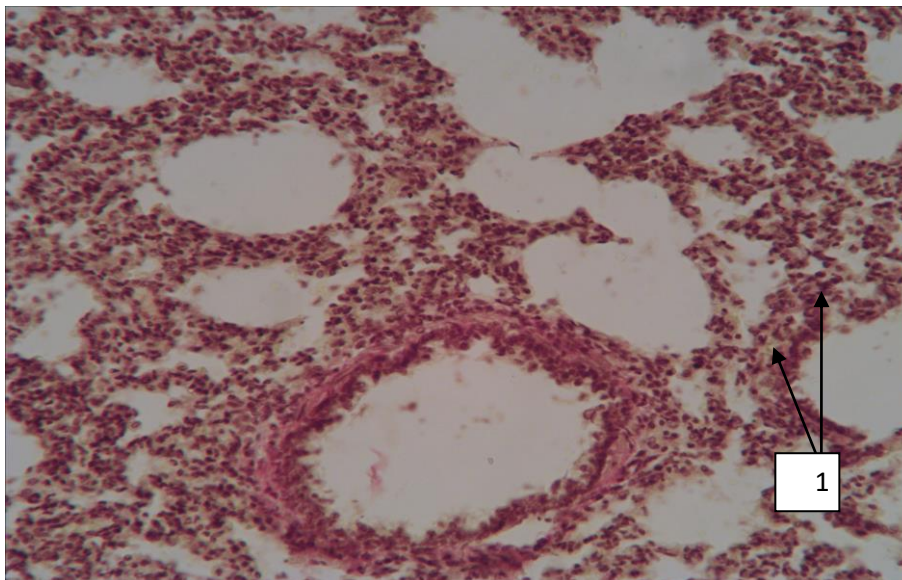


Рис.3. Легенева тканина щура молодого віку на 180 добу експерименту. Забарвлення по Ван-Гізон.×100.

1 – гіперплазія **зрілих колагенових** волокон в МП.

Разом з цим, виявляється, що при хронічній гіперглікемії паралельно розвиваються емфізематозні зміни в легенях, про що свідчить збільшення розмірів ШПБ.

Висновки. Таким чином, за умов експериментального алоксанового діабету виникає потовщення МП, що можна пов'язати з фіброзними змінами, які проявляються гіперплазією та гіпертрофією **колагенових** волокон; збільшення ШПБ, що говорить про бронходилатацію та, опосередковано, про емфізематозні зміни у легенях. Тобто, хронічна гіперглікемія провокує розвиток порушення дихального акту за рестриктивним типом з паралельним розвитком компенсаторної емфіземи.

Ключові слова: легені, алоксановий діабет, міжальвеолярна перетинка, респіраторна бронхіола.

Перспективи подальших досліджень: Наступним етапом дослідження морфології легневих структур під впливом експериментальної гіперглікемії є проведення ультрамікроморфометрії з визначенням змін у аерогематичному бар'єрі та альвеолоцитах.

Список літератури

1. Соколов ВВ. Современные представления о сегментарном строении легких. Эндоскопия. 2012; 2:17-20.
2. Сапрыкина ВП, Лесли П.Гартнер. Цветной атлас гистологии: Москва: Логосфера; 2008. 464 с.
3. Козлов АЕ. Функции белков сурфактанта в легких. Bulletin of Medical Internet Conferences. 2015; 5: 1648.
4. Мороз ГА. Фармкоррекция морфофункциональных нарушений в органах эндокринной и иммунной систем, вызванных систематическим воздействием гравитационных перегрузок. Світ медицини та біології. 2013; 2:62-63.
5. Макарова ОІ. Гістологічні особливості легень щурів, яким протягом перших 7 діб вводили розчин лактопротеїну з сорбітолом, через 14, 21 і 30 діб після опікової травми. Молодий вчений. 2014; 8 (11):118-121.
6. Ибраев СА. Морфологические изменения легких при воздействии промышленной хризотилсодержащей пыли. Science and healthcare. 2015; 2: 30-35.
7. Samara Katerina D. Smoking and pulmonary fibrosis. Pulmonary medicine. 2011; 2011: 1-4.
8. Roan E. What do we know about mechanical stresses in the lung's alveoli?. American journal of physiology. 2011; 5(305): 25-35.
9. Waters Erica A. Concern about unintended negative consequences of informing the public about multifactorial risk may be premature for young adult smokers. Helth psychology. 2014; 19(4): 720-736.
10. Saglam Melda. Functional. Functional capacity, physical activity, and quality of life in hypoxemic patients with chronic obstructive pulmonary disease. International Journal of COPD. 2016; 10: 423-428.
11. Yu-Hsiang Hsu. Interleukin-20 targets podocytes and is upregulated in experimental murine diabetic nephropathy. Experimental & Molecular Medicine. 2017; 49: 1-11.

12. Степанян ИЭ. Особенности заболеваний легких при сахарном диабете. Атмосфера. Пульмонология и аллергология. 2009; 4: 8-10.

References

1. Sokolov VV. Sovremennye predstavlenija o segmentarnom stroenii legkih [Modern ideas about the segmental structure of the lungs]. Jendoskopija. 2012; 2:17-20. (in Russian).

2. Saprykina VP, Lesli P.Gartner. Cvetnoj atlas gistologii[Color atlas of histology]: Moskva: Logosfera; 2008. 464 s. (in Russian).

3. Kozlov AE. Funkcii belkov surfaktanta v legkih [Functions of surfactant proteins in the lungs]. Bulletin of Medical Internet Conferences. 2015; 5: 1648. (in Russian).

4. Moroz GA. Farmkorrekcija morfofunkcional'nyh narushenij v organah jendokrinnoj i immunnoj sistem, vyzvannyh sistematicheskim vozdejstviem gravitacionnyh peregruzok [Pharmacorrection of morphofunctional disorders in the organs of the endocrine and immune systems caused by the systematic action of gravitational overloads]. Svit medicini ta biologii. 2013; 2:62-63. (in Russian).

5. Makarova OI. Histolohichni osoblyvosti lehen' schuriv, yakym protiahom pershykh 7 dib vvodyly rozchyn laktoproteinu z sorbitolom, cherez 14, 21 i 30 dib pislia opikovoї travmy [Histological features of lungs of rats, which during the first 7 days were injected lactobacillus solution with sorbitol after 14, 21 and 30 days after burn injury]. Molodyi vchenyi. 2014; 8 (11):118-121.(in Ukrainian).

6. Ibraev SA. Morfologicheskie izmeneniya legkih pri vozdejstvii promyshlennoj hrizotilsoderzhashhej pyli [Morphological changes in the lungs when exposed to industrial chrysotile-containing dust.]. Science and healthcare. 2015; 2: 30-35. (in Russian).

7. Samara Katerina D. Smoking and pulmonary fibrosis. Pulmonary medicine. 2011; 2011: 1-4.

8. Roan E. What do we know about mechanical stresses in the lung's alveoli?. American journal of physiology. 2011; 5(305): 25-35.

9. Waters Erica A. Concern about unintended negative consequences of informing the public about multifactorial risk may be premature for young adult smokers. *Health psychology*. 2014; 19(4): 720-736.

10. Saglam Melda. Functional capacity, physical activity, and quality of life in hypoxemic patients with chronic obstructive pulmonary disease. *International Journal of COPD*. 2016; 10: 423-428.

11. Yu-Hsiang Hsu. Interleukin-20 targets podocytes and is upregulated in experimental murine diabetic nephropathy. *Experimental & Molecular Medicine*. 2017; 49: 1-11.

12. Stepanjan IJe. Osobennosti zabolevanij legkih pri saharanom diabete [Features of lung diseases in diabetes mellitus.]. *Atmosfera. Pul'monologija i allergologija*. 2009; 4: 8-10. (in Russian).

Вплив експериментального алоксанового діабету на морфологію легеневих структур щурів віку прогресивного росту
Т.П.Теслик

Мета роботи - дослідити зміни морфологічних структур легеневої тканини щурів прогресивного росту в умовах експериментального алоксанового діабету.

Матеріал і методи. Дослідження проведені на 48 білих лабораторних щурах обох статей, масою $170,1 \pm 0,13$ г. Тварини були розділені наступним чином на групи (в кожній знаходилось по 6 особин) – 1-ша з терміном алоксанового діабету 90 діб, 2-га – 120 діб, 3-тя – 150 діб, 4-та – 180 діб. Кожна вищевказана експериментальна група порівнювалась з відповідною інтактною.

Для експериментального моделювання гіперглікемії, використовували хімічну сполуку - алоксан. Забій шести щурів кожної вікової групи проводили кожні 30 днів шляхом розтину грудної клітини під внутрішньоочеревинним тіопентал-натрієвих наркозом.

Були використані наступні методи дослідження легеневої тканини: гістологічне дослідження з забарвленням по Ван-Гізон, скануюча електронна мікроскопія і морфометрія за допомогою програми Digimizer 2007.

Результати. Проводячи аналіз отриманих даних по щурам інтактної групи в розрізі їх вікових змін (проводили дослідження щурів молодого віку з п'яти до восьми місяців), можна зробити наступні висновки, що з віком товщина міжальвеолярної перетинки (ТМП) і ширина провідного відділу респіраторної бронхіоли (ШПБ) збільшуються. Зі збільшенням терміну експериментального цукрового діабету, збільшується ширина провідної бронхіоли (ПБ). Якщо на 90 добу експерименту ШПБ становить $63,54 \pm 0,5$ мкм, то вже на 180 - $95,02 \pm 0,6$ мкм (зростання показника на 49,5% ($p \leq 0,001$)). Встановлено, що наявність хронічної гіперглікемії прямо пропорційно впливає на гіпертрофію міжальвеолярної перетинки. ТМП на 90 добу експерименту становить $7,03 \pm 0,1$ мкм, а вже на 180 добу - $15,02 \pm 0,04$ мкм (зростання показника у 2 рази).

Висновки. Таким чином, за умов експериментального алоксанового діабету виникає потовщення МП, що можна пов'язати з фіброзними змінами, які проявляються гіперплазією та гіпертрофією **колагенових** волокон; збільшення ШПБ, що говорить про бронходилатцію та, опосередковано, про емфізематозні зміни у легенях. Тобто, хронічна гіперглікемія провокує розвиток порушення дихального акту за рестриктивним типом з паралельним розвитком компенсаторної емфіземи.

Ключові слова: легені, алоксановий діабет, міжальвеолярна перетинка, респіраторна бронхіола.

**Влияние экспериментального алоксанового диабета на
морфологию легочных структур крыс возраста прогрессивного роста
Т.П.Теслык**

Цель исследования - исследовать изменения морфологических структур легочной ткани крыс прогрессивного роста в условиях экспериментального алоксанового диабета.

Материал и методы. Исследования проведены на 48 белых лабораторных крысах обоего пола, массой $170,1 \pm 0,13$ г. Животные были разделены следующим образом на группы (в каждой находилось по 6 особей) - 1-я со сроком алоксанового диабета 90 суток, 2-я - 120 суток, 3-я - 150 суток, 4-я - 180 суток. Каждая вышеуказанная экспериментальная группа сравнивалась с соответствующей интактной.

Для экспериментального моделирования гипергликемии, использовали химическое соединение - аллоксан. Забой шести крыс каждой возрастной группы проводили каждые 30 дней путем вскрытия грудной клетки под внутрибрюшинным тиопентал-натриевым наркозом.

Были использованы следующие методы исследования легочной ткани: гистологическое исследование с окрашиванием по Ван-Гизон, сканирующая электронная микроскопия и морфометрия с помощью программы Digimizer 2007.

Результаты. Проводя анализ полученных данных по крысам интактной группы в разрезе их возрастных изменений (проводили исследования крыс молодого возраста с пяти до восьми месяцев), можно сделать следующие заключения, что с возрастом толщина межальвеолярной перегородки (ТМП) и ширина проводного отдела респираторной бронхиолы (ШПБ) увеличиваются. С увеличением срока экспериментального сахарного диабета, увеличивается ширина проводящей бронхиолы (ПБ). Если на 90 сутки эксперимента ШПБ составляет $63,54 \pm 0,5$ мкм, то уже на 180 - $95,02 \pm 0,6$ мкм (возрастание показателя на 49,5% ($p \leq 0,001$)). Установлено, что наличие хронической гипергликемии прямо пропорционально влияет на гипертрофию межальвеолярной перегородки. ТМП на 90 сутки эксперимента составляет $7,03 \pm 0,1$ мкм, а уже на 180 сутки - $15,02 \pm 0,04$ мкм (возрастание показателя в 2 раза).

Выводы. Таким образом, в условиях экспериментального алоксанового диабета возникает утолщение МП, что можно связать с фиброзными изменениями, которые проявляются гиперплазией и гипертрофией **коллагеновых** волокон; увеличение ШПБ, что говорит о бронходилатации и,

опосредованно, о эмфизематозных изменения в легких. То есть, хроническая гипергликемия провоцирует развитие нарушения дыхательного акта по рестриктивному типу с параллельным развитием компенсаторной эмфиземы.

Ключевые слова: легкие, аллоксановый диабет, межальвеолярная перегородка, респираторная бронхиола.

The effect of experimental aloxane diabetes on the morphology of pulmonary structures in rats of progressive age

T.P Teslyk

Objective - The aim of the study was to identify and investigate the changes in the morphological structures of pulmonary tissue in rats of progressive growth under conditions of experimental aloxane diabetes.

Material and methods. The studies were carried out on 48 white laboratory rats of both sexes, with a mass of 170.1 ± 0.13 g. The animals were divided into groups as follows (each containing 6 individuals) - the 1st with the duration of aloxan diabetes 90 days, the 2nd - 120 days, the third - 150 days, the 4th - 180 days. Each of the above experimental groups was compared with the corresponding intact one.

For experimental modeling of hyperglycemia, a chemical compound called alloxane was used. A slaughter of six rats of each age group was performed every 30 days by opening the thorax under intraperitoneal thiopental sodium narcosis.

The following methods for studying pulmonary tissue were used: histological examination with painting by Van Nizon, scanning electron microscopy and morphometry using the Digimizer 2007 program.

Results. Carrying out the analysis of the obtained data on rats of the intact group in the context of their age-related changes (young rats were studied from five to eight months), the following conclusions can be drawn that, with age, the thickness of the interalveolar septum (TIS) and the width of the wire respiratory bronchioles (WRB). With an increase in the duration of experimental diabetes mellitus, the width of the conducting bronchioles (CB) increases. If on the 90th day of the experiment the BSB is 63.54 ± 0.5 μm , then by 180 - 95.02 ± 0.6 μm (an increase of 49.5% ($p \leq 0.001$)). It was established that the presence of chronic

hyperglycemia directly affects the hypertrophy of the interalveolar septum. TIS on the 90th day of the experiment is $7.03 \pm 0.1 \mu\text{m}$, and already for 180 days - $15.02 \pm 0.04 \mu\text{m}$ (an increase of 2 times).

Conclusions. In this manner, under the conditions of experimental aloxane diabetes, thickening of the MI occurs, which can be linked to fibrotic changes that are manifested by hyperplasia and hypertrophy of collagenous fibers; an increase in SBP, indicating bronchodilation and, mediated, of emphysematic changes in the lungs. That is, chronic hyperglycemia provokes the development of a violation of the respiratory act by the restrictive type with the parallel development of compensatory emphysema.

Key words: lungs, alloxan diabetes, interalveolar septum, respiratory bronchioles.

Відомості про автора: Теслик Т.П. - аспірант кафедри морфології медичного інституту Сумського державного університету, м.Суми, Україна. Email – tesluk.tanya@ukr.net.

Сведения об авторе: Теслык Т.П. - аспирант кафедры морфологии медицинского института Сумского государственного университета, г. Сумы, Украина. Email – tesluk.tanya@ukr.net.

Information about the author: Teslyk T.P. - post-graduate student of the Department of Morphology of the Medical Institute of Sumy State University, Sumy, Ukraine. Email – tesluk.tanya@ukr.net.

Теслик Т.П. Вплив експериментального алоксанового діабету на морфологію легневих структур щурів віку прогресивного росту / Т.П. Теслик // Буковинський медичний вісник - 2018. - № 2(86). - С. 90-95.