

ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ім. М. І. ПИРОГОВА МОЗ УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

САМБОРСЬКА ІНГА АНАТОЛІЇВНА

УДК 616.24:599.323.4:577.112.3:591.4:612.08

ДИСЕРТАЦІЯ
МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ В ЛЕГЕНЯХ ЩУРІВ
З ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЄЮ ЗАЛЕЖНО ВІД ВІКУ
(ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)

222 – Медицина
(22 – Охорона здоров'я)

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії.

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело


_____ І. А. Самборська

Наукові керівники:

Маєвський Олександр Євгенійович, доктор медичних наук, професор;
Заїчко Наталія Валентинівна, доктор медичних наук, професор.

Вінниця – 2021

АНОТАЦІЯ

Самборська І. А. Морфологічні зміни в легенях щурів з гіпергомоцистеїнемією залежно від віку (експериментальне дослідження). – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина». – Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова МОЗ України, Вінниця, 2021.

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення актуального наукового завдання щодо встановлення структурних змін легень щурів, в основі яких лежать вікові трансформації легень, що поглиблюються за умов гіпергомоцистеїнемії.

Дисертаційне дослідження здійснене відповідно до планів наукових досліджень Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова і є фрагментом науково-дослідних робіт кафедри біологічної та загальної хімії: «Вплив екзогенних та ендогенних чинників на обмін гідроген сульфідів та асоційованих з ним метаболічних процесів в нормі та при патології» (номер державної реєстрації 0113U006461), «Роль екзогенних та ендогенних сірковмісних сполук в механізмах ураження внутрішніх органів та цитопротекції за різних патологічних станів» (номер державної реєстрації 0119U001142).

Досліди проведені на 64 білих нелінійних щурах-самцях з вихідною масою 61-335 г, отриманих з віварію ВНМУ ім. М. І. Пирогова. В ході експерименту тварин поділено на дві групи – 1) контрольну, 2) дослідну. Кожна група розподілена на підгрупи залежно від віку, а саме – статевонезрілі щури (1-2 місяці), дорослі щури (6-8 місяців), старі щури (24-26 місяців).

Модель хронічної гіпергомоцистеїнемії створювали шляхом введення D,L-тіолактон гомоцистеїну гідрохлориду (Acros Organics, Італія) в дозі 200 мг/кг маси тіла в/шл на 1 % розчині крохмального гелю (1 мл /100 г маси щура) 1 раз на добу упродовж 8 тижнів. Щурам контрольної групи в/ш вводили лише

1 % розчин крохмального гелю 1 мл /100 г маси щура 1 раз на добу упродовж 8 тижнів

Для гістологічного дослідження забирали шматочки легень у попередньо зважених тварин всіх груп та вивчали за допомогою методів світлової і електронної мікроскопії. Гомогенати легень та зразки крові експериментальних щурів використовували для проведення біохімічних і лабораторних досліджень.

При гістологічному дослідженні легень інтактних тварин різних вікових груп встановлено, що вперше м'язова пластинка з'являється у бронхах великого калібру у статевонезрілих щурів. Із зменшенням діаметру бронхів розвиток її, навпаки, збільшується, що добре простежується у тварин дорослого віку. У статевонезрілих та дорослих тварин в стінці великого та середнього діаметру артерій відбувається розвиток, розростання еластичних волокон. У респіраторному відділі легень статевонезрілих щурів частина міжальвеолярних перегородок потовщені, що зменшує їх властивість розтягуватися. Також інтенсивно розвинені судини гемомікроциркуляторного відділу, особливо гемокапілярів в стінці альвеол для інтенсивного перебігу обмінних процесів.

Характерною особливістю вікової інволюції легень старих щурів є зміна реологічних властивостей слизу та поступової атрофії секреторних відділів слизових залоз бронхів, що призводить до нагромадження та застою слизу в просвіті бронхів та відповідно до слизової обструкції. Стінка бронхів стоншується, відбувається поступова атрофія оболонок, епітелій десквамується в просвіт. У старих щурів спостерігається відносна атрофія еластичних волокон та заміщення ретикулярними або колагеновими волокнами, що супроводжується потовщенням та ущільненням міжальвеолярних перегородок, втратою пружності та еластичності стінок судин. Віковою особливістю легень старих тварин є часткова редукція альвеол та міжальвеолярних перегородок, з формуванням емфізематозно розширених альвеол.

При гістологічному дослідженні легень статевонезрілих тварин за умов гіпергомоцистеїнемії встановлені помірні деструктивні зміни судин, бронхів, компонентів респіраторного відділу, що спостерігаються на тлі набряків та

гістолейкоцитарної інфільтрації; виявляються невеликі зони дис- та ателектазів, емфізематозного розширення. Виявлені зміни зворотні та мають пристосувально-компенсаторний характер.

У дорослих щурів за умов гіпергомоцистеїнемії встановлено пристосувально-компенсаторні та деструктивні зміни компонентів органу: значні площі дис- та ателектазів, емфізематозно змінені ділянки паренхіми; перибронхіально та паравазально визначаються формування запальних конгломератів, гісто- та лейкоцитарна інфільтрація.

У тварин старого віку дослідної групи розвиваються найбільш значні деструктивно-дегенеративні зміни, спостерігаються порушення стінок альвеол з виходом формених елементів крові в альвеолярний простір та утворення дрібних діapedезних крововиливів. Активація фіброblastів проявляється вираженим колагеноутворенням, яке зумовлює периваскулярний, перибронхіальний і інтерстиційний склероз, що чинить значний негативний вплив на процес газообміну в легенях.

При електронно-мікроскопічному дослідженні структурні зміни легень у статевонезрілих тварин на тлі гіпергомоцистеїнемії відбуваються в аерогематичному бар'єрі, які супроводжуються набряком респіраторного епітелію, що пов'язано з реактивними процесами в органі. У дорослих щурів при гіпергомоцистеїнемії відмічається значне звуження просвіту альвеол, формування аутофагосом (деградація білків з подальшим розвитком запальних процесів, індукуючих аутоімунну відповідь), спостерігається підвищена активність макрофагів та плазмоцитів (активація гуморальної ланки імунітету). Для старих тварин дослідної групи характерні прояви пневмосклерозу, фіброзу, ускладнення трофіки та газообміну. Чітко спостерігається токсичний ефект накопичення гомоцистеїну з ознаками апоптозу ендотеліоцитів та некрозу у респіраторному відділі легень.

Вперше при проведенні морфометричного аналізу ультраструктурних змін легень щурів виявлено прогресивне зростання площі альвеолоцитів II типу

у статевонезрілих, дорослих і старих тварин як контрольної, так і дослідної груп, із більш вираженими змінами у дослідній групі.

У щурів контрольної групи динаміка показників кількості пластинчастих тілець у 1 альвеолоциті II типу, площі пластинчастого тільця, сумарної площі пластинчастих тілець у 1 альвеолоциті II типу, питомої площі пластинчастих тілець має однонаправлений характер та полягає у зменшенні відповідних показників у дорослих тварин та подальшому зростанні цих показників у старих тварин. Динаміка відповідних показників у щурів при гіпергомоцистеїнемії також має однонаправлений характер і полягає у стабільності їх у статевонезрілих та дорослих тварин із подальшим ростом у старих тварин. При чому, вказані показники найбільш високі у старих тварин дослідної групи.

При біохімічному дослідженні зразків крові та гомогенатів легень щурів різного віку при гіпергомоцистеїнемії вперше доведено розвиток окисного стресу, запальних процесів, перекисного окислення ліпідів, ендогенної інтоксикації та фіброзу, що підтверджується зростанням рівнів малонового діальдегіду, молекул середньої маси, карбонільних груп протеїнів, трансформуючого фактору росту β , а також зниженням вмісту супероксиддисмутази, загальних фосфоліпідів.

За умов гіпергомоцистеїнемії у щурів всіх вікових категорій спостерігається накопичення пептидів з низькою молекулярною масою, активація протеолізу у вигляді підвищення загальної протеолітичної активності та надекспресії усіх досліджуваних матриксних металопротеїназ (матриксні металопротеїнази – 1, 2, 3, 8 та 10), що доводить зсув протеолітичних процесів в бік гіперактивації.

Таким чином, встановлені загальні та окремі специфічні закономірності структурної організації легень щурів різного віку, що проявляються в поступовому розвитку, нормальній гістоструктурі або регресії бронхів, судин, строми та компонентів респіраторного відділу легень. У легенях щурів старіння

супроводжується перерозподілом білків різної молекулярної маси, водночас рівень білків з молекулярною масою менше 30 кДа зменшується з віком.

У статевонезрілих тварин за умов гіпергомоцистеїнемії встановлені помірні деструктивні зміни судин, бронхів, компонентів респіраторного відділу (структурні зміни аерогематичного бар'єру), вони зворотні та мають пристосувально-компенсаторний характер. У дорослих щурів за умов гіпергомоцистеїнемії встановлені пристосувально-компенсаторні та деструктивні зміни компонентів органу. У тварин старого віку розвиваються найбільш значні деструктивно-дегенеративні зміни з проявами пневмосклерозу, фіброзу, ускладненням трофіки та газообміну.

За умов гіпергомоцистеїнемії у статевонезрілих щурів, а також дорослих щурів та щурів старого віку спостерігається зсув протеолітичних процесів в бік гіперактивації, та зміна білкового складу легень (накопичення білків з молекулярною масою менше 30 кД одночасно із зниженням рівня високомолекулярних білків).

Ключові слова: легені, гомоцистеїн, гіпергомоцистеїнемія, гістологічні зміни, електронно-мікроскопічні зміни, морфометричний аналіз, протеоліз.

ANNOTATION

Samborska I. A. Morphological changes in the lungs of rats with hyperhomocysteinemia depending on age (experimental study) – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in the field of knowledge 22 «Health» in the specialty 222 «Medicine». – National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya, Ministry of Health of Ukraine, Vinnytsya, 2021.

The dissertation presents a theoretical generalization and a new solution to the current scientific problem of establishing structural changes in the lungs of rats, which are based on age-related transformations of the lungs, which deepen under conditions of hyperhomocysteinemia.

The study was carried out in accordance with the research plans of National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya and is a fragment of research works of the Department of Biological and General Chemistry: "Influence of exogenous and endogenous factors on hydrogen sulfide metabolism and associated metabolic processes in normal and pathology" (state registration number 0113U006461), "The role of exogenous and endogenous sulfur-containing compounds in the mechanisms of internal organs damage and cytoprotection in various pathological conditions" (state registration number 0119U001142).

The experiments were performed on 64 white nonlinear male rats weighing 61-335 g, obtained from the vivarium of National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya. During the experiment, the animals were divided into two groups – 1) control, 2) experimental. Each group is divided into subgroups depending on age, namely – immature rats (1-2 months), adult rats (6-8 months), old rats (24-26 months).

A model of chronic hyperhomocysteinemia was created by administering to rats of experimental group D, L-thiolactone homocysteine hydrochloride (Acros Organics, Italy) at a dose of 200 mg / kg body weight intragastrically in 1 % starch gel solution (1 ml / 100 g rat weight) once a day for 8 weeks. Rats of the control group were intragastrically injected with only 1% starch gel solution 1 ml / 100 g of rat weight once a day for 8 weeks.

For histological examination, pieces of lungs were taken from pre-weighed animals of all groups and examined using light and electron microscopy. Lung homogenates and blood samples from experimental rats were used for biochemical and laboratory studies.

Histological examination of the lungs of intact animals of different ages revealed that for the first time a muscle plate appeared in the bronchi of large diameter in immature animals. With a decrease in the diameter of the bronchi, its development, on the contrary, increases, which is well observed in adult animals. In immature and adult animals of the control group in the wall of large and medium diameter arteries there is the development, growth of elastic fibers. In the respiratory

lungs of immature rats, part of the interalveolar septa is thickened, which reduces their ability to stretch. Also intensively developed vessels of hemomicrocirculatory part, especially hemocapillaries in a wall of alveoluses for an intensive course of metabolic processes.

A characteristic feature of age-related lung involution in old rats is a change in the rheological properties of mucus and gradual atrophy of the secretory parts of the bronchial mucosa, which leads to accumulation and stagnation of mucus in the bronchial lumen and mucosal obstruction. The wall of the bronchi becomes thinner, there is a gradual atrophy of the membranes, the epithelium is desquamated into the lumen. In old rats, relative atrophy of elastic fibers and replacement by reticular or collagen fibers is observed, which is accompanied by thickening and compaction of interalveolar septa, loss of elasticity and resilience of vascular walls. The age feature of the lungs of old animals is the partial reduction of alveoli and interalveolar septa, with the formation of emphysematically dilated alveoli.

Histological examination of the lungs of immature animals under conditions of hyperhomocysteinemia revealed moderate destructive changes in blood vessels, bronchi, components of the respiratory part, observed on the background of edema and histoleukocyte infiltration; small zones of dys- and atelectasis, emphysematous expansion are found. The identified changes are reversible and have an adaptive-compensatory nature.

In adult rats under conditions of hyperhomocysteinemia, adaptive-compensatory and destructive changes of organ components were found: large areas of dis- and atelectases, emphysematically altered areas of the parenchyma; formation of inflammatory conglomerates, histo- and leukocyte infiltration are determined peribronchially and paravasally.

In old animals of the experimental group the most significant destructive-degenerative changes develop, there are violations of the walls of the alveoli with the release of blood cells into the alveolar space and the formation of small diapedetic hemorrhages. Activation of fibroblasts is manifested by pronounced collagen

formation, which causes perivascular, peribronchial and interstitial sclerosis, which has a significant negative impact on the process of gas exchange in the lungs.

In electron microscopic examination, structural changes in the lungs of immature animals on the background of hyperhomocysteinemia occur in the air-blood barrier, which is accompanied by swelling of the respiratory epithelium, which is associated with reactive processes in the body. In adult rats with hyperhomocysteinemia there is a significant narrowing of the lumen of the alveoli, the formation of autophagosomes (degradation of proteins with the subsequent development of inflammatory processes that induce an autoimmune response), there is increased activity of macrophages and plasma cells (activation of the humoral immunity). Old animals of the experimental group are characterized by manifestations of pneumosclerosis, fibrosis, trophic complications and gas exchange. The toxic effect of homocysteine accumulation with signs of endothelial cell apoptosis and necrosis in the respiratory tract of the lungs is clearly observed.

For the first time in the morphometric analysis of ultrastructural changes in the lungs of rats revealed a progressive increase in the area of type II alveolocytes in immature, adult and old animals in both control and experimental groups, with more pronounced changes in the experimental group.

In rats of the control group, the dynamics of the number of lamellar bodies in 1 alveolocyte type II, the area of the lamellar body, the total area of lamellar bodies in 1 alveolocyte type II, the specific area of lamellar bodies has a unidirectional character and consists in reduce of the corresponding indicators in adult animals and their subsequent increase in old animals. The dynamics of the corresponding indicators in rats with hyperhomocysteinemia also has unidirectional character and consists in their stability in immature and adult animals with subsequent growth in old animals. Moreover, these parameters are highest in old animals of the experimental group.

In the biochemical study of blood samples and lung homogenates of rats of different ages in hyperhomocysteinemia for the first time proved the development of oxidative stress, inflammatory processes, lipid peroxidation, endogenous intoxication and fibrosis, as evidenced by increasing levels of malonic dialdehyde, average mass

molecules, carbonyl groups of proteins, transforming growth factor β , as well as reducing the content of superoxide dismutase, total phospholipids.

Under conditions of hyperhomocysteinemia in rats of all ages there is an accumulation of peptides with low molecular weight, activation of proteolysis in the form of increased total proteolytic activity and overexpression of all studied matrix metalloproteinases (matrix metalloproteinases – 1, 2, 3, 8 and 10) towards hyperactivation.

Thus, general and some specific patterns of structural organization of the lungs of rats of different ages, manifested in the gradual development, normal histostructure or regression of the bronchi, vessels, stroma and components of the respiratory lungs. In the lungs of rats, aging is accompanied by a redistribution of proteins of different molecular weights, while the level of proteins with a molecular weight of less than 30 kDa decreases with age.

In immature animals under conditions of hyperhomocysteinemia, moderate destructive changes of blood vessels, bronchi, components of the respiratory part (structural changes of the air-blood barrier) have been established, they are reversible and have an adaptive-compensatory character. In adult rats under conditions of hyperhomocysteinemia, adaptive-compensatory and destructive changes of organ components have been established. In old animals developed the most significant destructive-degenerative changes with manifestations of pneumosclerosis, fibrosis, trophic and gas exchange complications.

Under conditions of hyperhomocysteinemia in immature rats, as well as adult and old rats, there are shifts of proteolytic processes towards hyperactivation and changes in lung protein composition (accumulation of proteins with a molecular weight less than 30 kDa simultaneously with a decrease in macromolecular proteins).

Key words: lungs, homocysteine, hyperhomocysteinemia, histological changes, electron microscopic changes, morphometric analysis, proteolysis.

Список публікацій здобувача за темою дисертації

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Samborska I. A. Features of histological changes in the lungs of mature animals under conditions of hyperhomocysteinemia / I. A. Samborska, O. Ye. Maievskiy, Z. M. Nebesna // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2019. – № 37. – P. 32-37.

2. Samborska I. A. Features of microscopic changes in lung structure of young rats under conditions of hyperhomocysteinemia / I. A. Samborska // Reports of morphology. – 2019. – Т. 25, № 3. – P. 5-9.

3. The role of hyperhomocysteinemia in the development of changes in the lungs / I. Samborska, O. Kovalchuk, S. Fagoonee, T. Falalyeyeva, O. Maievskiy // Reviews on recent clinical trials. – 2020. – Vol. 15, Issue 1. – P. 48-59.

4. Ultrastructural changes in the lungs of 1-2 months-old rats in the conditions of hyperhomocysteinemia / I. A. Samborska, O. Y. Maievskiy, K. M. Ahafonov, O. I. Kovalchuk // World of Medicine and Biology. – 2020. – Vol. 71, № 1. – P. 214-217.

5. Samborska I. A. Changes in the histostructure of the lungs of old rats under conditions of persistent hyperhomocysteinemia / I. A. Samborska // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2020. – № 41. – P. 41-45.

6. Самборська І. А. Порівняльна характеристика гістологічних змін тканини легень у щурів різного віку за умов гіпергомоцистеїнемії / І. А. Самборська // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2021. – Т. 25, № 2. – С. 196-200.

7. Protein-peptide composition in the lungs of rats with hyperhomocysteinemia / N. Raksha, T. Halenova, T. Vovk, O. Kharchenko, O. Savchuk, I. Samborska, N. Zaichko, L. Ostapchenko, O. Maievskiy // Journal of Biological Research. – 2021. – № 94: 9858. <https://doi.org/10.4081/jbr.2021.9858>

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

8. Самборська І. А. Електронно-мікроскопічні зміни в легенях щурів віком 6-8 та 24-26 місяців за умов гіпергомоцистеїнемії / І. А. Самборська, О. Є.

Маєвський // Збірник тез доповідей VII конгресу наукового товариства анатомів, гістологів, ембріологів, топографоанатомів України (2-4 жовтня 2019 р., м. Одеса). – Одеса, 2019. – С. 366-367.

9. Самборська І. А. Електронно-мікроскопічні зміни в легенях щурів віком 1-2 місяці за умов гіпергомоцистеїнемії / І. А. Самборська, О. Є. Маєвський // Збірник матеріалів науково-практичної конференції «Прикладні аспекти морфології експериментальних і клінічних досліджень» (10-11 жовтня 2019 р., м. Тернопіль). – Тернопіль, 2019. – С. 155-156.

10. Самборська І. А. Мікроскопічні та біохімічні зміни в легенях щурів молодого віку за умов гіпергомоцистеїнемії / І. А. Самборська, Н. В. Заїчко, О. Є. Маєвський // Збірник тез наукових робіт учасників XVII науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Перший крок в науку-2020» (8-10 квітня 2020 р., м. Вінниця). – Вінниця, 2020. – С. 512.

ЗМІСТ

	стор.
АНОТАЦІЯ	2
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ	15
ВСТУП	17
РОЗДІЛ 1 МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ СТАНОВЛЕННЯ ТА ВІКОВИХ ЗМІН СТРУКТУРИ ЛЕГЕНЬ В ПРОЦЕСІ ОНТОГЕНЕЗУ ЛЮДИНИ. РОЛЬ ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЇ В РОЗВИТКУ ПАТОЛОГІЙ ДИХАЛЬНОЇ СИСТЕМИ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	24
1.1. Морфологічні особливості структури легень залежно від віку	24
1.2. Гомоцистеїн та його роль в патології органів дихання	32
РОЗДІЛ 2 ЗАГАЛЬНА МЕТОДИКА Й ОСНОВНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	46
2.1. Загальна методика і об'єкти дослідження	46
2.2. Методи дослідження	47
2.2.1. Біохімічні і лабораторні	47
2.2.2. Гістологічні.	55
2.2.3. Ультраструктурні.	56
2.2.4. Математичної статистики.	56
РОЗДІЛ 3 БІОХІМІЧНІ ЗМІНИ ЛЕГЕНЬ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ ЗА УМОВ ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЇ	57
РОЗДІЛ 4 МОРФОЛОГІЧНИЙ СТАН СТРУКТУРНИХ КОМПОНЕНТІВ ЛЕГЕНЬ ЩУРІВ РІЗНИХ ВІКОВИХ ГРУП ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЇ	71
4.1 Структурна організація легень статевонезрілих, дорослих та	

	14
старих щурів контрольної групи	71
4.2. Особливості гістологічних змін легень статевонезрілих тварин за умов гіпергомоцистеїнемії	78
4.3. Гістологічні зміни легень дорослих тварин за умов гіпергомоцистеїнемії	82
4.4. Гістологічні зміни легень тварин старого віку за умов гіпергомоцистеїнемії	87
РОЗДІЛ 5 ДИНАМІКА УЛЬТРАСТРУКТУРНИХ ЗМІН РЕСПІРАТОРНОГО ВІДДІЛУ ЛЕГЕНЬ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ ЗА УМОВ ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЇ	94
5.1. Ультراструктурний стан компонентів респіраторного відділу легень статевонезрілих, дорослих та старих тварин контрольної групи	94
5.2. Ультраструктура легень статевонезрілих щурів за умов гіпергомоцистеїнемії	100
5.3. Ультраструктура легень дорослих щурів за умов гіпергомоцистеїнемії	103
5.4. Ультраструктура легень старих щурів за умов гіпергомоцистеїнемії	107
5.5. Морфометричний аналіз ультраструктурних змін легень щурів різного віку на тлі гіпергомоцистеїнемії	111
АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ	127
ВИСНОВКИ	139
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	142
ДОДАТКИ	166

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ ТА ТЕРМІНІВ

АДФ – аденозиндифосфат
АМРА – асиметричний диметиларгінін
АФК – активні форми кисню
БА – бронхіальна астма
ГГц – гіпергомоцистеїнемія
Гц – гомоцистеїн
ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота
ДСН – додецилсульфат натрію
ЕДТА – етилендіамінтетраоцтова кислота
ЕПС – ендоплазматична сітка
ІХС – ішемічна хвороба серця
ЛПНЩ – ліпопротеїди низької щільності
МАТ – S-аденозилметіонінсинтетаза
МДА – малоновий діальдегід
МСМ – молекули середньої маси
НАДФН – нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат
ОРД – о-фенілендіамін
ОС – окисний стрес
ПААГ – поліакриламідний гель
ПНЖК – поліненасичені жирні кислоти
ПОЛ – перекисне окислення ліпідів
СРБ – С-реактивний білок
ТМБ – тетраметилбензидин
ТХО – трихлороцтова кислота
ХОЗЛ – хронічне обструктивне захворювання легень
ЦД – цукровий діабет

ШКТ – шлунково-кишковий тракт
BHMT – бетаїн-гомоцистеїн-S-метилтрансфераза
CBS – цистатіонін β -синтаза
CSE – цистатіонін γ -ліаза
GP – глутатіон пероксидаза
H₂S – гідроген сульфід
HMGR – гідроксиметилглутирин-КоА-редуктаза
MAPK – мітогенактивована протеїнкіназа
MMP – матриксні металопротеїнази
MS – метіонінсинтаза
MTHFR – метилентетрагідрофолатредуктаза
NF- $\kappa\beta$ – некротичний фактор капа- β
NMDA – N-метил-D-аспартат
NO – оксид азоту
NOS – синтаза оксиду азоту
PMSF – фенілметилсульфонілфторид
SAH – S-аденозилгомоцистеїн
SAHH – S-аденозилгомоцистеїнгідролаза
SAM – S-аденозилметіонін
SDH – сукцинатдегідрогеназа
SOD – супероксиддисмутаза
TGF β – трансформуючий фактор росту β
TIMP – тканинний інгібітор матриксних металопротеїназ
TNF- α – туморонекротичний фактор α

ВСТУП

Актуальність теми. Хвороби органів дихання є надзвичайно розповсюдженою патологією в структурі захворюваності населення України та належать до глобальних проблем охорони здоров'я, насамперед унаслідок їх значної поширеності серед працездатного населення, постійного прогресування, частого поєднання різних патологій легень та обтяжливого впливу на супутні захворювання [96].

Найбільш поширені захворювання органів дихання серед дитячого населення. Вони є медико-соціальною проблемою, яка значною мірою визначає рівень дитячої захворюваності і малюкової смертності. Починаючись в дитинстві, бронхо-легенева патологія в ряді випадків призводить до інвалідності хворих у зрілому віці [162].

Хвороби дихальної системи є також дуже поширеними серед дорослого населення і займають друге місце після захворювань серця та судин [200].

Протягом останніх років велику увагу дослідників привертає вивчення ролі гомоцистеїну (Гц) в розвитку різних патологічних станів, в тому числі органів дихальної системи [1].

В Україні гіпергомоцистеїнемія (ГГц) діагностують в 10 % здорових дорослих осіб, 2 % юнаків і підлітків, 43 % пацієнтів з хворобами серця і судин (ІХС, інфаркт міокарда, атеросклероз, інсульт, венозні тромбози), 30 % хворих на хронічні гепатити, 70 % хворих на цироз печінки [3].

ГГц на сьогоднішній день є одним із факторів ризику виникнення і прогресування бронхо-легеневої патології. Однак наразі в наукометричних базах даних знайдено обмежену кількість інформації з зазначеного питання, а дослідження стосовно закономірностей гістологічних змін органу при ГГц у віковому аспекті не проводились, що і визначає важливість даної роботи.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційне дослідження здійснене відповідно до планів наукових досліджень

Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова і є фрагментом науково-дослідних робіт кафедри біологічної та загальної хімії: «Вплив екзогенних та ендогенних чинників на обмін гідроген сульфїду та асоційованих з ним метаболічних процесів в нормі та при патології» (номер державної реєстрації 0113U006461), «Роль екзогенних та ендогенних сірковмісних сполук в механізмах ураження внутрішніх органів та цитопротекції за різних патологічних станів» (номер державної реєстрації 0119U001142).

Мета дослідження – визначення особливостей біохімічних та морфологічних змін структури легень щурів при підвищеному рівні гомоцистеїну залежно від віку.

Завдання дослідження:

1. Встановити гістологічні та ультраструктурні особливості легень інтактних щурів залежно від віку в умовах нормогомоцистеїнемії.
2. Виявити морфологічні зміни легень щурів різного віку в умовах гіпергомоцистеїнемії.
3. Встановити ультраструктурні зміни в легенях щурів різного віку в умовах гіпергомоцистеїнемії.
4. Визначити біохімічні показники в легенях щурів різного віку за умов гіпергомоцистеїнемії.

Об'єкт дослідження – Особливості пошкодження та компенсаторно-приспосувальних змін у легенях щурів при підвищеному рівні гомоцистеїну.

Предмет дослідження – Біохімічні, гістологічні та ультраструктурні зміни легень щурів при гіпергомоцистеїнемії в різних вікових групах.

Методи дослідження: гістологічні – для дослідження мікроскопічних змін структур легень; електронно-мікроскопічний – для визначення ультрамікроскопічних проявів реактивних змін у легенях щурів; біохімічний – для об'єктивної оцінки перебігу компенсаторних, пристосувальних та деструктивних процесів в легенях щурів за умов здійсненого експерименту; статистичного аналізу – для забезпечення передбачених описовою статистикою

процедур визначення статистичної значущості розбіжностей між групами порівняння.

Наукова новизна одержаних результатів. У результаті проведеного дослідження вперше встановлені гістологічні, ультраструктурні та біохімічні зміни легень щурів різного віку та на фоні гіпергомоцистеїнемії. Доповнено існуючі уявлення про *гістологічні* (у статевонезрілих тварин – м'язова пластинка вперше з'являється у бронхах великого калібру; у респіраторному відділі легень частина міжальвеолярних перегородок потовщені; інтенсивно розвинені судини гемомікроциркуляторного відділу, особливо гемокапілярів в стінці альвеол; в стінці великого та середнього діаметру артерій відбувається розвиток та розростання еластичних волокон; у щурів старого віку – зміна реологічних властивостей слизу та поступової атрофії секреторних відділів слизових залоз бронхів; стоншення стінки бронхів; поступова атрофія оболонок та еластичних волокон і заміщення ретикулярними або колагеновими волокнами, що супроводжується потовщенням та ущільненням міжальвеолярних перегородок, втратою пружності та еластичності стінок судин; десквамація епітелію в просвіт; часткова редукція альвеол та міжальвеолярних перегородок з формуванням емфізематозно розширених альвеол), *ультраструктурні* (у статевонезрілих тварин – відносно потовщені стінки альвеол порівняно з легенями дорослих тварин, що утруднює процес газообміну; особливістю альвеолоцитів II типу є великі осміофільні пластинчасті тільця в цитоплазмі, що містять велике округле ядро з неглибокими інвагінаціями, чисельні рибосоми в цитоплазмі, помірно розвинуті каналці ендоплазматичної сітки та цистерни комплексу Гольджі; ендотеліальні клітини мають невелике, витягнутої форми ядро, чітку каріолему, добре виражені ядерні пори, наявні ядерця в каріоплазмі; в навколоядерній зоні визначаються органели загального призначення; в периферійних, витончених ділянках виявляються чисельні мікропухирці та кавеоли, що забезпечують трансендотеліальний обмін; у щурів старого віку – для стінки альвеол характерне потовщення сполучнотканинної основи стінки альвеоли, значне

стоншення аерогематичного бар'єру, що сповільнює газобмін у легенях; в просвітах альвеол визначаються активно фагоцитуючі альвеолярні макрофаги, які містять в цитоплазмі осміофільні лізосоми, на апікальній поверхні мікрворсинки, велике неправильної форми ядро з інвангінаціями каріолеми) та *біохімічні* (у легенях щурів старіння супроводжується перерозподілом білків різної молекулярної маси, водночас рівень білків з молекулярною масою менше 30 кДа зменшується з віком) зміни в структурі легень щурів різного віку при нормогомоцистеїнемії.

При гістологічному дослідженні вперше встановлено, що за умов гіпергомоцистеїнемії в легенях статевонезрілих тварин відбуваються пристосувально-компенсаторного характеру зворотні зміни: помірна деструкція судин, бронхів, компонентів респіраторного відділу; невеликі зони дис- та ателектазів, емфізематозного розширення; у дорослих щурів – значні площі дис- та ателектазів, емфізематозно змінені ділянки паренхіми; перибронхіально та паравазально визначаються формування запальних конгломератів, гісто- та лейкоцитарна інфільтрація; у тварин старшого віку – порушення стінок альвеол з виходом формених елементів крові в альвеолярний простір; утворення дрібних діapedезних крововиливів; виражене колагеноутворення, яке зумовлює периваскулярний, перибронхіальний і інтерстиційний склероз.

Вперше на ультраструктурному рівні встановлено, що структурні зміни легень у статевонезрілих тварин на тлі гіпергомоцистеїнемії відбуваються в аерогематичному бар'єрі, супроводжуються набряком респіраторного епітелію; у дорослих щурів – значне звуження просвіту альвеол, формування аутофагосом; розвиток запальних процесів; підвищена активність макрофагів та плазмоцитів; у старих тварин – пневмосклероз, фіброз, ускладнення трофіки та газообміну; апоптоз ендотеліоцитів та некроз у респіраторному відділі легень.

Вперше при проведенні морфометричного аналізу ультраструктурних змін легень щурів виявлено прогресивне зростання площі альвеолоцитів II типу у статевонезрілих, дорослих і старих тварин як контрольної, так і дослідної груп, із більш вираженими змінами у дослідній групі. У щурів контрольної

групи динаміка показників кількості пластинчастих тілець у 1 альвеолоциті II типу, площі пластинчастого тільця, сумарної площі пластинчастих тілець у 1 альвеолоциті II типу, питомої площі пластинчастих тілець має однонаправлений характер та полягає у зменшенні відповідних показників у дорослих тварин та подальшому зростанні цих показників у старих тварин. Динаміка відповідних показників у щурів при гіпергомоцистеїнемії також має однонаправлений характер і полягає у стабільності їх у статевонезрілих та дорослих тварин із подальшим ростом у старих тварин. Вказані показники найбільш високі у старих тварин дослідної групи.

При біохімічному дослідженні зразків крові та гомогенатів легень щурів різного віку при гіпергомоцистеїнемії вперше доведено розвиток окисного стресу, запальних процесів, перекисного окислення ліпідів, ендогенної інтоксикації та фіброзу; зростання рівнів малонового діальдегіду, молекул середньої маси, карбонільних груп протеїнів, трансформуючого фактору росту β ; зниження вмісту супероксиддисмутази, загальних фосфоліпідів. У щурів всіх вікових категорій спостерігається накопичення пептидів з низькою молекулярною масою; активація протеолізу; надекспресія усіх досліджуваних матриксних металопротеїназ.

Практичне значення отриманих результатів. Результати комплексного морфологічного та біохімічного досліджень тканини, зразків крові та гомогенатів легень щурів різного віку при гіпергомоцистеїнемії свідчать про розвиток негативних гісто-, ультраструктурних та біохімічних пристосувально-компенсаторного характеру змін структури легень, що обумовлює в подальшому необхідність продовження досліджень щодо використання відповідних лікувальних заходів.

Результати досліджень використовуються в лекційних курсах та в ході проведення практичних занять на кафедрах: гістології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова; гістології та ембріології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця; гістології, цитології та ембріології Львівського національного медичного

університету імені Данила Галицького; гістології, цитології та ембріології Одеського національного медичного університету; гістології та ембріології Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського; гістології, цитології та ембріології Буковинського державного медичного університету; гістології, цитології та ембріології Івано-Франківського національного медичного університету; гістології, цитології та ембріології Полтавського державного медичного університету; гістології Дніпровського державного медичного університету; біохімії ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка.

Особистий внесок здобувача. Автор брав участь у постановці та проведенні експериментального дослідження. Самостійно провів забір і підготовку матеріалу для гістологічного дослідження. Здобувачем особисто виконано патентно-інформаційний пошук, аналіз наукової літератури та написаний її аналітичний огляд, описані всі глави власних досліджень дисертаційної роботи, здійснено розробку основних теоретичних та практичних положень проведеного дослідження. Разом з науковими керівниками проведено аналіз отриманих результатів і сформульовані висновки. Гістологічні дослідження виконані за консультативною допомогою д.б.н., професора К. С. Волкова та д.б.н., проф. З. М. Небесної (кафедра гістології та ембріології Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського). Електронно-мікроскопічні дослідження виконані за консультативною допомогою д.мед.н, проф. Л. О. Стеченко (кафедра гістології та ембріології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця). Біохімічні дослідження виконані за консультативною допомогою д.б.н, проф. О. М. Савчука (кафедра біохімії ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка). У сумісних з науковими керівниками та колегами публікаціях здобувачу належать основні результати стосовно гістологічних і електронномікроскопічних змін у легенях щурів при гіпергомоцистеїнемії.

Апробація результатів дисертації. Основні положення роботи викладені та обговорені на науковій конференції «Прикладні аспекти морфології експериментальних і клінічних досліджень» (Тернопіль, 2019); VII Конгресі наукового товариства анатомів, гістологів, ембріологів, топографоанатомів України (Одеса, 2019); «Досягнення сучасної медицини та фармакології на засадах медичної біохімії» до 70-річчя від дня народження професора О.О. Пентюка (Вінниця, 2019); XVII Науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Перший крок в науку – 2020» (Вінниця, 2020).

Публікації. Оpubліковано 10 наукових праць, з яких 3 самостійних. 4 статті опубліковано в наукових фахових журналах України (з них 1 відноситься до міжнародної наукометричної бази Web of Science). 3 статті опубліковано в закордонних наукових фахових журналах (Італія – 2 статті, що відносяться до міжнародної наукометричної бази Scopus; Польща). 3 тез в матеріалах конгресу та науково-практичних конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена українською мовою на 187 сторінках. Робота складається з анотації, змісту, переліку умовних скорочень, вступу, аналітичного огляду літератури, загальної методики й основних методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, аналізу й узагальнення результатів дослідження, висновків, списку літературних джерел (серед яких 69 викладені кирилицею та 158 – латиницею) та додатків. Дисертаційне дослідження ілюстровано 45 рисунками та 16 таблицями.

РОЗДІЛ 1

МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ СТАНОВЛЕННЯ ТА ВІКОВИХ ЗМІН СТРУКТУРИ ЛЕГЕНЬ В ПРОЦЕСІ ОНТОГЕНЕЗУ ЛЮДИНИ. РОЛЬ ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЇ В РОЗВИТКУ ПАТОЛОГІЙ ДИХАЛЬНОЇ СИСТЕМИ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1. Морфологічні особливості структури легень залежно від віку

Сучасні експериментальні дослідження характеризуються використанням значної кількості доступних на сьогоднішній день засобів діагностики тих, чи інших патологічних станів з метою їх глибокого розуміння. Не дивлячись на велику різноманітність лабораторних і інструментальних методів, гістологічні (світлооптичні, електронномікроскопічні) посідають одне з провідних місць, оскільки дають змогу науковцям розкрити повну картину змін органів та систем при дії чинників різного генезу. Одним із важливих напрямків морфологічних досліджень є вивчення особливостей розвитку та динаміки формування окремих структур органів в процесі онтогенезу людини. Вікові закономірності будови та функцій дихальної системи тісно взаємопов'язані із загальними законами росту і розвитку організму [7, 14]. Оскільки дихальна система є єдиною, яка не функціонує в повній мірі протягом ембріо- та фетогенезу, процеси детермінації та диференціації тих, чи інших структур легень відбуваються під час всього періоду внутрішньоутробного розвитку, а критичні моменти даних процесів значно подовжуються в часі. Саме тому органи бронхо-легеневої системи є вразливими до дії чисельних екзогенних чинників, патологія їх є частим явищем [42]. Зважаючи на зазначені факти, більш глибоке вивчення особливостей становлення легень в різні періоди індивідуального розвитку людини є актуальною задачею, вирішення якої лежить в основі встановлення механізмів, причин виникнення, методів

діагностики, лікування та профілактики набутих хвороб і вроджених патологій органів дихання. Крім того, дана система завжди викликала найбільше суперечок серед наукової спільноти, у зв'язку з різними поглядами дослідників на джерела її морфогенезу.

Згідно даних літератури, органи дихальної системи починають розвиватись на 3-4 тижнях ембріогенезу. Слід зазначити, що джерелами розвитку виступають похідні одразу двох зародкових листків – ентодерми і мезодерми. На вентральній стінці первинної кишки виникає мішкоподібне вип'ячування, що має назву ларинго-трахеальна борозна. З краніального відділу останньої формується гортань, а з каудального – трахея. На 4-му тижні внутрішньоутробного розвитку в нижній частині ларинго-трахеальної борозни з'являються також два асиметричних вип'ячування – права та ліва легеневі бруньки, що дають початок розвитку бронхів і легень [56, 68].

Хрящі гортані розвиваються з 2-3-ї пар зябрових дуг. Зачаток трахеї чітко визначається на 8-9 тижнях внутрішньоутробного розвитку та представлений хрящовими і м'язовими елементами [5, 6].

Ретельний аналіз наукових джерел дав змогу встановити, що виділяють три великих стадії розвитку легень: 1) ембріональну; 2) фетальну; 3) постнатальну. В кожній з них розрізняють періоди, що характеризуються виникненням, диференціюванням та становленням їх окремих структурних елементів [90].

Ембріональна стадія починається з 3-4 тижнів внутрішньоутробного розвитку і за даними різних авторів може тривати до 5-го тижня онтогенезу, характеризується формуванням зачатків майбутньої трахеї і бронхів. В окремих наукових джерелах ембріональний і фетальний періоди описані разом із зазначенням лише чотирьох окремих стадій: 1) стадія закладки легень; 2) псевдозалозиста; 3) каналікулярна; 4) сакулярна [156].

Псевдозалозиста стадія триває з 6-го по 16-й тижні індивідуального розвитку, характеризується формуванням дистальних відділів бронхіального дерева до термінальних бронхіол. Даний процес відбувається шляхом

активного поділу зачатків бронхів в оточуючій їй мезенхімі. Диференціювання майбутніх стінок їх здійснюється поступово в ході розгалуження, тому трахея, часткові і сегментарні бронхи розвинені в цей період краще, а мілкі генерації дещо відстають [63, 65]. На початку 6-го тижня ембріогенезу повітроносні шляхи мають товсті стінки, що вкриті одношаровим призматичним або кубічним епітелієм, а ззовні оточені ущільненим шаром мезенхіми. До кінця 16-го тижня трахею, часткові, сегментарні бронхи вистилає багат шаровий циліндричний епітелій, в якому чітко диференціюються базальні, війчасті, секреторні та нейроендокринні клітини. Як зазначають науковці, в цей період секреторні клітини ймовірно починають продукувати незначну кількість так званої внутрішньолегової фетальної рідини. Підслизова оболонка зазначених зачатків майбутніх органів містить залози, хрящі та судини [9, 12]. До кінця псевдозалозистої стадії мілкі бронхи і термінальні бронхіоли мають вигляд сліпих тяжів, вкриті зсередини одношаровим призматичним чи кубічним епітелієм, що не має ознак диференціювання. Ззовні вони оточені мезенхімою, подекуди виявляють кровоносні судини. Слід зазначити, що на ранніх етапах розвитку розгалуження первинних бронхів має моноподіальний характер, тобто одnobічний, при цьому головний стовбур продовжує рости, не змінюючи напрямку. Коли процес формування бронхіального дерева завершується, поділ стає дихотомічним [17].

Швидкість поділу бронхів є прискореною в період 13-14 тижнів внутрішньоутробного розвитку, коли виникає до семидесяти основних генерацій їх. При цьому зачаток правої легені містить на 1-3 розгалуження більше, ніж лівої. Середні та нижні частки легень більш розвинені, ніж верхні. На 15-му тижні з'являються секреторні клітини термінальних і респіраторних бронхіол – клітини Клара. Характерним для цього періоду є також формування сітки артерій і вен та преацинарних артеріол. Бронхіальні структури до кінця 15-го тижня розвитку стають готовими до кліренсу і виконання секреторної функції [68].

Каналікулярна стадія триває з 16-го до 26-го тижнів пренатального онтогенезу. Під час даного періоду характерним є розвиток дистальних відділів бронхів – респіраторних бронхіол і формування примітивних ацинусів. Поділ бронхів супроводжується зменшенням об'єму оточуючої їх мезенхіми. На зазначеному етапі термінальні бронхіоли зсередини вкриті одношаровим циліндричним епітелієм, а респіраторні бронхіоли – одношаровим кубічним. Останні мають генерації трьох порядків, а від кожної з них відходять так звані термінальні бруньки, які представлені епітеліальними непроліферуючими клітинами та є зачатками альвеолярних мішечків [90].

Починаючи з 22-24 тижнів розвитку плода формуються альвеолоцити I та II типів шляхом диференціювання кубічних епітеліальних клітин респіраторних бронхіол. Зазначені клітини на початку трансформації характеризуються зменшенням вмісту в їх цитоплазмі включень глікогену і збільшенням мультивезикулярних та осміофільних пластинчастих (ламельярних) тілець. Останні в подальшому (на 25-26 тижнях) секретуються в просвіт бронхіол. Визначальною рисою є також активний розвиток апарату білкового синтезу – гранулярної ендоплазматичної сітки, що забезпечує продукцію компонентів сурфактанту, головним чином апопротеїнів. Фосфоліпіди ж транспортуються в пластинчасті тільця комплексом Гольджі [142, 162, 187].

Розвиток альвеолоцитів I типу відбувається шляхом сплюснення кубічних епітеліоцитів, зменшення кількості в них органел та втрати здатності до проліферації. В цей час важливим фактом є посилена диференціація кровоносних судин, капіляри починають вростати в паренхіму легень. До кінця 26-го тижня пренатального онтогенезу зростає кількість фетальної рідини в бронхах, що містить в складі продукти секрету залоз та келихоподібні клітини і трансудат плазми крові. Функції фетальної рідини, як відомо, полягають в участі розвитку легень, оскільки вона сприяє очищенню епітеліального вистилення різних відділів дихальних шляхів від клітинного детриту, захищає і зволожує їх, а тиск, що чинить під час процесів поділу, розгалуження

термінальних бронхів, утворення альвеолярних мішечків має стимулюючий вплив на дані процеси [6, 42].

Сакулярна стадія триває з 26-го до 38-го тижнів пренатального онтогенезу. Даний період характеризується тим, що в примітивних альвеолярних мішечках, що сформувались на попередньому етапі, з'являється просвіт, а самі мішечки значно розширюються. Поступово між ними виникають тонкі перегородки, збагачені кровоносними капілярами. Так формуються перші альвеоли легень. В паренхімі легень під час сакулярної стадії значно зростає кількість макрофагів, фібробластів і лімфоцитів. Фібробласти починають продукувати основні елементи міжклітинного простору, однак еластичні та колагенові волокна присутні ще в незначній кількості. В різних відділах легень альвеоли поліморфні – від сформованих до примітивних неправильної форми або тих, що повністю спались. Крім того, протягом сакулярної стадії спостерігається активне формування ацинусів [56].

Під час всього періоду пренатального онтогенезу поряд з органами дихання з мезенхіми, що їх оточує, формується також сполучна тканина, гладенька м'язова тканина, хрящі і кровоносні судини. З вентральної мезодерми виникає вісцеральна і парієнтальна плевра [5].

Серед всіх органів дихання легені, як відомо, найбільше видозмінюються в постнатальному періоді. При цьому зазначені зміни відбуваються як по відношенню до їх структури, так і функцій. З першим вдихом дитини легені розправляються, а просвіт альвеол розширюється. Поверхнєве тяжіння в них зменшується завдяки сурфактанту, зникає супротив повітрю, що вдихається. Альвеолоцити I типу поступово сплющуються, значно тоншими стають міжальвеолярні перегородки, формується аерогематичний бар'єр, що забезпечує процес газообміну. В цей час також підвищується активність альвеолоцитів II типу, вони виділяють в просвіт альвеол ламелярні тільця. Як свідчать дані наукових досліджень, одразу після народження в легенях дитини можлива наявність незначної кількості альвеол з ознаками ателектазу [9, 17]. Характерною особливістю є те, що в даний період добре розвинена капілярна

сітка, що на достатньо значній площі контактує зі стінкою альвеоли, забезпечуючи високий ступінь аерації. Саме тому кількість крові, яка проходить в судинах за одиницю часу набагато більша, ніж у дорослих. Газообмін підвищений, а, отже, зростає інтенсивність обмінних процесів, які є необхідною умовою для росту та розвитку в ранньому постнатальному періоді.

Важливим є той факт, що в міжальвеолярних перегородках та стінках бронхіол у новонароджених надзвичайно мало еластичних елементів. Ступінь розтягу легеневої тканини низький, тому діти даної вікової групи вимушені здійснювати значні зусилля під час дихання, щоб забезпечити нормальну вентиляцію [56].

В новонароджених дітей слизова оболонка трахеї і бронхів ніжна, багата кровоносними і лімфатичними судинами, м'язова тканина та еластичні волокна розвинені погано. В стінках бронхів виявляють масивні пластинки гіалінового хряща та малу чисельність слизових залоз, що характеризуються простою будовою. Між альвеолами та часточками легень наявна значна кількість елементів пухкої сполучної тканини з кровоносними і лімфатичними капілярами, які формують добре розгалужену сітку [65].

Процеси формування і розвитку альвеол відбуваються головним чином протягом постнатального онтогенезу. Одразу після народження їх сумарна кількість складає близько 200-250 млн і, як відомо, в цей час вони не є респіраторними одиницями легень. Починаючи з другого місяця життя дитини, відбувається активна трансформація респіраторних бронхіол в альвеолярні ходи з подальшим формуванням альвеолярних мішечків. Первинні альвеоли значно збільшуються в розмірах, однак стінки їх всеодно є відносно товстими, в порівнянні з дорослими, а еластичні елементи присутні в незначній кількості [63]. Процес альвеологенезу є найбільш активним протягом перших 1,5 років та триває аж до 18 років життя людини. Даний факт пояснюють тим, що формування їх є складним процесом та залежить від рівня розвитку кровоносної, сурфактантної систем і наявності еластичного каркасу. Останній служить міцною основою для кровоносних судин, які посилено ростуть. Однак

повністю сформованими еластичні структури легень стають до 18 річного віку [90].

Зацікавленість викликає той факт, що за даними окремих авторів, значну роль в нормальному розвитку і функціонуванні легень відіграє так звана колатеральна вентиляція альвеол. Встановлено, що остання формується в період з 3 до 5 років життя дитини. На сьогоднішній день відомо, що існують три види колатеральних сполучень. До них відносять пори Кона (міжальвеолярні колатералі, загальна кількість яких складає близько 50 в одній альвеолі), канали Ламберта (бронхіолоальвеолярні колатералі) та канали Мартіна (міжбронхіолярні сполучення) [118].

У віці 1,5-2 роки спостерігається збільшення розмірів легень в 4,5 рази в порівнянні з періодом новонародженості. Даний процес обумовлений зростанням об'єму існуючих альвеол, при цьому сумарна кількість їх не має тенденції до підвищення. Еластичні волокна в цей час є все ще нечисельними [156].

Завершення формування легеневої тканини припадає на вік 6-8 років постнатального розвитку. До цього часу будова ацинусів є остаточно встановленою. В період 7-8 років зростає також об'єм легень приблизно у 8 разів, що зумовлено збільшенням кількості альвеол і розмірів всіх елементів респіраторного відділу дихальних шляхів. Після зазначеного віку в легенях не спостерігається формування нових структур, а ріст органу здійснюється завдяки збільшенню об'єму бронхів, бронхіол, ацинусів, що триває до того часу, поки розвивається грудна клітина [162].

Процеси розвитку і росту легень продовжуються до 18-21 років. Починаючи з 21-го року органи дихання вважають такими, що повністю сформувались. В легеневій тканині після зазначеного періоду спостерігають лише абсолютний ріст і поступове зниження відносного. Загальна кількість альвеол у здорових дорослих людей складає вже близько 400-650 млн, діаметр їх становить 250 мкм. Добре розвиненим є еластичний каркас, гладком'язові клітини, колагенові волокна тонкі і ніжні. В даний час індивідуального

розвитку сформованою є кровоносна система органу, завершені процеси її ремоделювання [9, 45].

Вікових інволютивних змін дихальна система зазнає починаючи з 50-ти років. Спочатку спостерігається зворотній розвиток розмірів і об'єму бронхіального дерева. Відомо, що келихоподібні клітини стінок бронхів починають продукувати більш в'язкий, густий секрет. Порущується діяльність війчастих клітин, які в молодому віці забезпечують задовільний кліренс дихальних шляхів. Характерним є зміни структури альвеол. У частини з них починають редукуватись септи, що стає причиною формування ділянок емфіземи, а, отже, зменшення площі дихальної поверхні легень і порушення процесів газообміну. Елементи сполучної тканини, в першу чергу колагенові волокна, стають грубими, щільними, в той час як кількість еластичних починає неухильно зменшуватись. Значний вплив на процеси вентиляції чинять також зміни стінок судин легень. Зокрема капіляри є ламкими, ригідними, а артерії мають виражені фіброзно-склеротичні зміни [17, 42, 56, 96].

Еластичні волокна альвеол стають гомогенними та втрачають фібрилярність. Особливості будови респіраторних бронхіол та альвеолярних ходів змінюються – спрощуються, розширюються, що найбільш виражено у верхніх відділах легень. Значно зменшується чисельність альвеолярних пор, альвеолоцитів I і II типів, макрофагів. Нерівномірне потовщення стінок альвеол розвивається внаслідок надмірного проростання колагенових волокон. Останні іноді заповнюють просвіт альвеол, формуючи зони склерозу. Збільшення розмірів пор Кона, а також розширення альвеол, призводить до змін співвідношення їх поверхні до об'єму [63, 88].

Характерною рисою інволютивних вікових змін легень є розлади лімфоток у внаслідок перибронхіального склерозу. Стінки лімфатичних судин потовщуються, склерозуються, створюються навіть умови для їх розриву. Лімфатичні капіляри зазнають атрофії та облітеруються. Іноді виявляють вогнищеві розширення судин аж до лімфангіектазії, що сприяє застою лімфи в ділянках бронхіол та альвеолярних ходів [194, 203].

В стінці легеневої артерії еластичні волокна розщеплюються, розшаровуються, є нечіткими, а подекуди визначаються ознаки еластозу. В ендотеліальному вистиленні капілярів легень виявляють чисельні включення. Порушується також проникність їх стінок, потовщується базальна мембрана та зменшується чисельність функціонуючих капілярів [45, 144].

Таким чином, протягом ембріонального та фетального періодів внутрішньоутробного розвитку легені піддаються чисельним процесам становлення, диференціації та росту, що в подальшому визначають закономірності їх розвитку в постнатальному онтогенезі. Як зазначено вище, органи дихальної системи активно функціонують лише після народження дитини та характеризуються вираженими змінами їх структурних елементів. Даний факт є надзвичайно важливим, оскільки незрілість легень протягом тривалого часу життя дитини робить їх сприйнятливими до впливу факторів екзо- чи ендогенного походження та здатна зумовити розвиток цілої низки захворювань, що визначає актуальність вивчення особливостей морфологічних змін органу та критичних періодів. Слід також зазначити, що вікові інволютивні процеси трансформації, які спостерігаються у всіх органах та системах, є неухильними та відповідають законам функціонування організму, заслуговують особливої уваги, оскільки дослідження закономірностей гістологічних ознак ураження легеневої тканини за умов впливу факторів різного генезу є неможливою без чіткого розуміння нормальних, характерних для певної вікової групи змін.

1.2. Гомоцистеїн та його роль в патології органів дихання

Гомоцистеїн (Гц) є сірковмісною непротеїногенною амінокислотою, продуктом обміну метіоніну. Останній потрапляє до організмі людини разом з білковою їжею тваринного походження, а в подальшому завдяки низки

біохімічних реакцій з нього синтезується Гц [30]. Під впливом ферменту S-аденозилметіонінсинтетази (MAT, EC 2.5.1.6) та присутності молекули АТФ з метіоніну утворюється S-аденозилметіонін (SAM), що є універсальним донором металних груп в реакціях біосинтезу тих, чи інших сполук. Зокрема він є необхідним в процесах формування креатину, епінефрину, карнітину, фосфоліпідів, білків, нуклеїнових кислот. SAM також є важливим регулятором метилування ДНК (ядерної та мітохондріальної), ремоделювання хроматину, посттрансляційної модифікації гістонів, процесингу мРНК, експресії генів [36, 50]. В реакціях трансметилування SAM втрачає метильну групу і перетворюється на S-аденозилгомоцистеїн (SAH), який під дією ензиму S-аденозилгомоцистеїнгідролази (SAHN, EC 3.3.1.1) розщеплюється до Гц та аденозину. Слід зазначити, що підвищений рівень SAH чинить негативний вплив на метилтрансферази, виступаючи їх потужним алостеричним інгібітором, а внутрішньоклітинне співвідношення SAM / SAH визначає ступінь активності реакцій трансметилування [52, 165, 169, 170, 190, 224].

Згідно даних літератури, близько 50 % Гц утилізується шляхом реметилування. Як відомо, існують два види даного процесу. Перший полягає в перенесенні металної групи з N-5-метилтетрагідрофолату (коферменна форма вітаміну B₉) на Гц в присутності залежного від вітаміну B₁₂ ферменту метіонінсинтази (MS, EC 2.1.1.13) з утворенням метіоніну. Важливим є той факт, що синтез N-5-метилтетрагідрофолату з N-5, 10-метилентетрагідрофолату каталізується ензимом N-5, 10 метилентетрагідрофолатредуктазою (MTHFR, EC 1.5.1.20), потребує наявності НАДФН та регулюється SAM, SAH, що є негативними чи позитивними регуляторами відповідно. Інший шлях реметилування полягає в тому, що в якості донора металної групи виступає бетаїн. Висока активність альтернативного варіанту реметилування спостерігається в нирках, печінці, кришталіку ока, в той час як вище зазначений перший варіант (B₉ / B₁₂-залежний) має місце майже у всіх тканинах організму. Бетаїн в даному випадку синтезується з холіну за участі бетаїнгомоцистеїн-S-метилтрансферази (BHMT, EC 2.1.1.5) [43, 49].

Наступним шляхом елімінації Гц є процес транссульфування. На початкових етапах відбувається конденсація Гц з серином та утворення цистатіоніну. Останній піддається гідролізу до цистеїну і α -кетобутирату. Реакції конденсації каталізуються вітамін В₆-залежними ферментами цистатіонін β -синтазою (CBS, EC 4.2.1.22), а гідроліз здійснюється під впливом цистатіонін γ -ліази (CSE, EC 4.4.1.1). Цистеїн є попередником для синтезу протеїнів, коензиму А, сульфатів, глутатіону, а α -кетобутират в подальшому піддається окисному декарбоксилуванню [76].

Ще одним механізмом утилізації Гц є процес десульфування, який, головним чином, протікає в тканинах головного мозку та забезпечує перетворення Гц на H₂S [196].

Ретельний аналіз наукових джерел показує, що в нормі концентрація Гц в плазмі крові складає близько 5-15 мкмоль/л. Слід зазначити, що існують різні форми даної амінокислоти: зв'язаний з білками крові Гц – 70-80 %, поєднана дисульфідна форма Гц з цистеїном – 20-30 %, вільний Гц – 2 % і тіолактон Гц – до 0,3 %. У всіх зазначених варіаціях він здатен зберігатись в клітинах організму, підтримуючи необхідний для життя рівень есенціальної амінокислоти метіоніну [148, 154, 223]. За умов, коли концентрація Гц в крові перевищує 15 мкмоль/л діагностують синдром гіпергомоцистеїнемії (ГГц). Класифікують останній на три ступені важкості: легкий – 16-30 мкмоль/л, середній – 31-100 мкмоль/л і важкий – > 100 мкмоль/л [22]. Синдром ГГц нині є поліетіологічним станом, оскільки існує значна кількість визначаючих його факторів [136]. Серед основних виділяють генетичні – спадкові дефекти ферментів обміну метіоніну і Гц (MTHFR, CBS, MS); дефіцит вітамінів В₆, В₉, В₁₂; прийом деяких лікарських засобів (комбіновані оральні контрацептиви, цитостатики, антигістамінні, протисудомні, цукрознижуючі); шкідливі звички (паління, вживання алкоголю, кави). Крім того, існують окремі фактори ризику, а саме – ожиріння, похилий вік, чоловіча стать, наявність в анамнезі цукрового діабету та порушень функцій печінки, нирок. Останні відіграють ведучу роль в елімінації надлишків Гц з організму, тому розлади діяльності, що виникають за

умов печінкової та ниркової недостатності можуть стати причиною важкої ГГц [10, 21, 31].

Концентрація Гц зростає з віком, що на думку науковців пов'язано з поступовим зниженням функцій нирок. Важливу роль відіграє і гендерний аспект. Різниця рівнів даної амінокислоти у чоловіків та жінок віком 40-42 роки складає 2 мкмоль/л. Припускають, що більше розвинена система скелетних м'язів, а, отже, вища концентрація креатиніну, креатину визначають превалювання Гц в крові чоловіків. Крім того, значний вплив на його вміст чинять естрогени, тому в жінок до настання періоду менопаузи ризик ГГц та асоційованих з нею патологічних станів є набагато нижчим, ніж в представників чоловічої статі [8, 40, 67].

Дослідження підтверджують той факт, що у чоловіків та жінок, які вживають надмірну кількість кави протягом дня концентрація Гц вища на 19 % і 28 % відповідно. Тривале паління є причиною дефіциту вітамінів В₆, В₉, В₁₂, оскільки на їх метаболізм впливає значний вміст ціанідів тютюнового диму. Алкоголь також виступає причиною зниження рівнів вітаміну В₆ в плазмі крові та В₉, В₁₂ в еритроцитах. Відомо, що етанол значно пригнічує активність MS в печінці [84, 128, 132, 217].

Спадкові причини ГГц є наслідком генетичних мутацій та призводять до дефіциту ферментів обміну Гц. Класична гомоцистеїнурія розвивається при недостатності CBS, є аутосомно-рецесивним захворюванням з частотою в світі близько 1: 344 000 новонароджених. Одним із поширених варіантів мутації є с.833Т>С, що характеризується частими тромбоемболічними ускладненнями. Відомим також є вид зміни сайту сплайсингу IVSII-2А>С, який призводить до піридоксин резистентної форми захворювання. За даними різних джерел, дефіцит CBS асоціюють з дислокацією кришталика, розумовою відсталістю в 50 % випадків, патологіями кісткової і хрящової тканин. В половини гомозигот без ефективної діагностики і лікування до віку 30 років спостерігається розвиток ІХС, порушення мозкового кровообігу [11, 108, 109, 119, 209].

Мутації MTHFR зустрічаються, головним чином, у вигляді двох варіантів. Варіант T (MTHFR C677T) характеризується заміною цитозину на тимін та провокує появу серцево-судинних захворювань, дефектів розвитку плода, раку молочної залози, яєчників. Варіант C поліморфізму гена MTHFR (MTHFR A1298C) полягає в точковій заміні аденіну на цитозин, характеризується помірним зниженням активності ферменту, не супроводжується важкою ГГц, однак обумовлює підвищену потребу в фолатах та значний ризик онкологічних захворювань [101, 104, 135, 141].

Дефекти ферменту MS є рідкою патологією. Відомим є варіант мутації гену A2756G, що призводить до зниження активності ензиму та помірно вираженої ГГц [124].

ГГц є незалежним фактором ризику чисельних захворювань. Наразі виявлений тісний взаємозв'язок між концентрацією Гц та патологією серцево-судинної системи. Згідно фремінгемського дослідження зростання рівня його на кожні 5 мкмоль/л підвищує ризик атеросклеротичного ураження судин на 80 % у жінок і на 60 % у чоловіків. ГГц реєструють в 13-47 % хворих на ІХС та вважають предиктором розвитку гострих епізодів серцево-судинних ускладнень [23, 51, 73, 77, 113, 137, 179]. Крім того, Гц асоціюють з патологіями дихальної системи (ХОЗЛ, бронхіальна астма (БА)), шлунково-кишкового тракту (хвороба Крона, неспецифічний виразковий коліт, ентерити, неалкогольна жирова хвороба печінки), гіпотиреозом, нейродегенеративними захворюваннями, колагенозами, тощо [31, 44, 186].

В Україні ГГц діагностують в 10 % здорових дорослих осіб, 2 % юнаків і підлітків, 43 % пацієнтів з хворобами серця і судин (ІХС, інфаркт міокарда, атеросклероз, інсульт, венозні тромбози), 30 % хворих на хронічні гепатити, 70 % хворих на цироз печінки. Важливим є той факт, що поліморфізм гену MTHFR варіант T в нашій країні зустрічається в 40,7 % випадків [3].

Механізми патогенної дії підвищеного рівня Гц на організм людини активно вивчається. Результати експериментальних досліджень вказують на існування взаємозв'язку між ГГц та пригніченням процесів метилювання,

розвитком окисного стресу (ОС), зміною структури і функцій протеїнів, активацією запальних процесів, фіброзом, тощо. На думку більшості науковців ОС при ГГц є причиною окислення вільних тіольних груп Гц [53, 74, 121, 122, 205]. Зазначений процес супроводжується продукцією активних форм кисню (АФК). Гц та його метаболіти окислюючись, сприяють формуванню супероксид-аніон-радикалу ($O_2^{\cdot-}$), гідроксильного радикалу (OH^{\cdot}), H_2O_2 , які володіють високим ступенем токсичності. Система антиоксидантного захисту, що в нормі, працюючи як буфер, нейтралізує вільні радикали, при підвищеному рівні Гц не здатна в повній мірі забезпечити захист організму від їх негативного впливу. ГГц стає причиною виснаження внутрішньоклітинних запасів цієї системи (глутатіон пероксидази (GP, EC 1.11.1.9), супероксиддисмутази (SOD, EC 1.15.1.1), каталази (EC 1.11.1.6) та, як наслідок, розвитку ОС [102, 103]. АФК пошкоджують клітини, в першу чергу ендотеліоцити судинної стінки, спричиняють активацію їх апоптозу, потовщення базальної мембрани, відкладання фібрину, надмірну проліферацію гладком'язових клітин стінок судин [94, 123, 216]. Тому вважають, що ще одним видом прояву негативної дії ГГц є ендотеліальна дисфункція, хоча, як відомо, в основі її розвитку крім порушень окисно-відновного гомеостазу лежать запальні, вазоактивні та гемостатичні механізми [106, 175, 189, 197]. Значна продукція АФК пригнічує активність синтази оксиду азоту (NOS, EC 1.14.13.39), зменшуючи його рівень. Крім того, взаємодія Гц з NO призводить до формування надзвичайно токсичної сполуки – пероксинітриту та зниження біодоступності і, відповідно, біологічних ефектів NO в судинній стінці. Останній факт є сприятливим для запуску запальних процесів, тромбоутворення [41, 64, 69, 146, 210]. Відомо також, що надлишок Гц зумовлює окислення ліпопротеїдів низької щільності (ЛПНЩ), білків, нуклеїнових кислот, знижує синтез простагліцину, підвищує агрегацію тромбоцитів, активує систему згортання крові (фактор V, VI, XII, протромбін), інгібує фібриноліз (знижує рівень тканинного плазміногена). Пригнічення ним синтезу тромбомодуліна унеможливує дезактивацію тромбіна спеціальними протеїнами C і S. При ГГц знижується активність

антитромбіну III, гепарину, зростають агрегаційні властивості тромбоцитів. Останнє, ймовірно, пов'язане з активацією реакцій каскаду арахідонової кислоти, внаслідок зростання чутливості тромбоцитів до АДФ і тромбіну. Характерним є підвищення експресії фактора Вілебранда на поверхні ендотеліального вистилення судин. Експериментальні дослідження на щурах доводять, що ГГц стає причиною порушення метаболізму аденілових нуклеотидів, аденозину і є передумовою розвитку гіперреактивності тромбоцитів [19, 20, 95].

Вільні радикали, що утворюються внаслідок окислення Гц зумовлюють перекисне окислення ліпідів (ПОЛ). Така їх модифікація є причиною формування пінистих клітин, запуску механізмів запалення, активації нуклеарного фактора каппа- β (NF- $\kappa\beta$), фактора транскрипції і експресії стрес-залежних генів. Відомо, що надлишок Гц призводить до накопичення ліпідів в tunica intima судинної стінки і науковці розробили навіть гомоцистеїнову теорію атеросклерозу. Цікавим є той факт, що в культурі ендотеліальних клітин людини ГГц сприяє посиленій експресії ферменту гідроксиметилглутарил-КоА-редуктази (HMGR, EC 1.1.1.88), який відіграє визначальну роль в синтезі холестерину [81, 83, 140, 147, 199, 202, 225].

Зміни структури та функції білків за умов підвищеної концентрації Гц носять назву гомоцистеїнування протеїнів. Наразі відомими є два види гомоцистеїнування – S і N. Перший вид полягає у взаємодії вільної тіольної групи Гц з залишком цистеїну в молекулі білка, з формуванням дисульфідного зв'язку. Такі зміни мають значний вплив на тіолзалежний редокс-статус білків, що піддались процесу модифікації [126, 193]. N-гомоцистеїнування виникає, коли Гц своєю аміно групою взаємодіє з ϵ -аміно групою залишку лізину білкової молекули і змінює чи порушує структуру та функції даного протеїну. Зазначеному варіанту трансформації піддаються альбуміни, гемоглобін, імуноглобуліни, трансферин, антитрипсин, фібриноген. Оскільки N-гомоцистеїнування відбувається під час посттрансляційних модифікацій білків, існує думка, що порушується саме процес фолдингу (місфолдинг) в

ендоплазматичній сітці (ЕПС), що призводить до акумуляції дефектних («не згорнутих») протеїнів, перевантаження ними органели та активації її стресу. У відповідь на це запускаються механізми білкової деградації, їх ензиматичної інактивації або формування амілоїду. Доведеним є факт, що такі модифіковані молекули часто виступають в ролі неоантигенів, які є тригерами запальних процесів, аутоімунної відповіді. За даними літератури, білки, що зазнали N-гомоцистеїнування в судинній стінці розпізнаються спеціальними атитілами, а взаємодія білок-антитіло активує циркулюючі макрофаги, що є агентами хронічного пошкодження ендотелію [114, 188, 207, 214, 215, 220, 221].

Одним із перспективних напрямків сучасної науки є дослідження ролі ГГц в процесах протеолізу. Вже встановлений взаємозв'язок між концентрацією Гц в плазмі крові та активністю лізосомальних цистеїнових катепсинів. Останні мають широку тканинну локалізацію та беруть участь в деградації компонентів сполучної тканини, обмінних процесах, клітинній диференціації, пухлинній прогресії. Виражена ГГц супроводжується зростанням активності катепсинів L, H в скелетних і гладеньких м'язах [24, 86, 151]. Вважають, що окисна модифікація протеїнів за умов підвищеної концентрації Гц є тригером запуску протеолізу деградованих білків, виступаючи важливим механізмом захисту від токсичної дії продуктів їх метаболізму. Лізосомальні цистеїнові катепсини володіють здатністю розщеплювати як внутрішньоклітинні, так і позаклітинні протеїни. Даний вид протеаз є надзвичайно чутливим до впливу несприятливих факторів, зокрема АФК. Останні запускають розвиток ОС, створюючи умови для порушення компартменталізації лізосом, підвищення проникності їх мембран внаслідок активації Ca^{2+} каналів [66].

Таким чином, значна поширеність ГГц в популяції та важлива роль даного синдрому у патогнезисі різних захворювань, є ключовими факторами того, що дана амінокислота стає цікавим таргетом для подальших досліджень. Останні дадуть змогу встановити роль харчових факторів в профілактиці асоційованих з ГГц патологічних станів, вивчити молекулярні механізми взаємодії амінокислоти з внутрішньоклітинними мішенями, а також можливості

попередження розвитку ускладнень на початкових стадіях їх виникнення. Відомо, що зростання вмісту в плазмі крові Гц зумовлює порушення діяльності не лише органів серцево-судинної системи, але і низки інших. Оскільки протягом тривалого часу науковцями всього світу активно вивчається дана проблема, нижче наведені дані лише незначної їх кількості.

Актуальними в наш час є дослідження щодо впливу ГГц на розвиток хвороби Альцгеймера, Паркінсона, когнітивних розладів [98, 129, 158, 218]. Відомо, що надлишок Гц підвищує експресію генів, відповідальних за продукцію прозапальних медіаторів – IL1b, TNF- α в мікроглії та кіназ в нервових клітинах. Встановлена його роль у виникненні нейродегенеративних захворювань внаслідок стимуляції синтезу АФК в нейронах та їх апоптозу. Також Гц виступає агоністом метаботропних і іонотропних рецепторів асиметричного диметиларгініну (AMPA) та рецепторів N-метил-D-аспартату (NMDA). Індукція NMDA рецепторів в нейронах головного мозку зумовлює загибель останніх через тимчасову активацію мітогенактивованої протеїнкінази (МАРК). Посилення активності γ -секретази, накопичення β -амілоїду при ГГц, призводять до гіперфосфорилювання білка тау, що лежить в основі патогенезу хвороби Альцгеймера. Накопичення всередині нейронів Ca^{2+} , розвиток стресу ЕПС та ремоделювання позаклітинного матриксу в тканинах головного мозку також асоційовані з ГГц. Ca^{2+} погіршує функціонування мітохондрій, змінюючи потенціал їх внутрішньої мембрани, порушує синтез АТФ. При цьому значна продукція АФК запускає систему каспаз, призводячи до фрагментації ДНК та апоптозу нервових клітин [35, 172, 173, 174]. Слід також зазначити, що ГГц порушує рівновагу між активністю матриксних металопротеїназ-9 (ММР-9) та тканинним інгібітор даного ферменту (ТІМР-4). ММР-9 взаємодіючи з компонентами гематоенцефалічного бар'єру, в кінцевому рахунку руйнує їх [152, 180, 195, 208, 213].

Підвищений вміст в плазмі крові Гц спричиняє розвиток запальних захворювань та процесів ремоделювання в органах ШКТ. Поліморфізм MTHFR C677T асоціюється з тромбозом мезентеріальних судин. ГГц діагностують в

пацієнтів з хворобою Крона, неспецифічним виразковим колітом, колоректальним раком [91, 133, 153, 192, 226]. Відомо, що порушення синтезу SAM є причиною фіброзу печінки. За даних умов Гц спричиняє ОС в гепатоцитах, підвищує продукцію TNF- α , фактору росту (TGF β – трансформуючий фактор росту β), стимулює активність зірчастих макрофагів. Крім того, під впливом АФК запускається каскад запальних процесів, підвищується проліферація гладком'язових клітин стінок судин. Розвиток за даних умов ендотеліальної дисфункції та тромботичних ускладнень в кровоносних судинах печінки, призводять до гіперперфузії і гіпоксії органу, а в кінцевому рахунку – до фіброзу [54, 161].

ГГц реєструють на різних стадіях хронічної хвороби нирок, що пояснюється порушенням нормальної елімінації амінокислоти сечовидільною системою, а це близько 20 % всього Гц. Дані наукових джерел свідчать, що уражається як гломерулярний апарат нирок, так і ниркові каналці. При гістологічному дослідженні зазвичай виявляють збільшення розмірів клубочків, пошкодження їх ендотеліального шару, вогнищеві злукові процеси між капілярами та капсулою Шумлянського-Боумена. Часто спостерігають гіпертрофію епітелію проксимальних каналців нефрону, втрату ними щіткової облямівки, а подекуди наявна проліферація мезангіальних клітин [33, 131, 171].

Дослідження з культурою клітин кісткового мозку, що збагачена Гц показало, що він підвищує утворення та активність остеокластів. Це призводить до зростання інтенсивності резорбції кісткової тканини, зниження її мінеральної щільності. Крім того, Гц погіршує репарацію кісток через запуск каспаз-залежного апоптозу стромальних клітин [47, 82, 168, 227].

ГГц часто зустрічається у хворих з ЦД II типу та є причиною діабетичної поліневропатії. Відомо, що прийом цукрознижуючих препаратів, зокрема метформіну, призводить до порушення кобаламінового обміну. Це пов'язано з впливом препарату на ШКТ – зниження моторики та швидкості всмоктування глюкози через стінку кишечника спричиняє порушення в ньому мікрофлори та

мальабсорбції кобаламіну. Дефіцит вітаміну V_{12} порушує метаболізм Гц. Під впливом АФК, що генеруються за умов ГГц розвивається ендоневральна мікроангіопатія, порушення кровообігу, ішемія нервів. На ранніх стадіях ураження виявляють ознаки дегенеративних змін тонких безмієлінових волокон, а в подальшому залучається мієлінова оболонка, виникає розширення ендоневрального простору, ушкодження нейролемоцитів, з'являються ділянки де- та ремієлінізації [2, 159].

Виходячи з вище зазначених фактів, ГГц може виступати в якості тригера для розвитку хвороб всіх органів та систем. Патогенетичні механізми впливу підвищеної концентрації Гц на особливості морфологічних, біохімічних змін в тканинах організму продовжуть активно вивчати, не дивлячись на наявні вже ґрунтовні експериментальні дослідження, дані метаналізів. Не зважаючи на те, що дана амінокислота знаходиться в сфері підвищеної цікавості науковці, безліч питань щодо молекулярних механізмів її дії досі є не з'ясованими.

Надзвичайно обмеженими у вітчизняних та іноземних наукових джерелах є дані стосовно морфологічних змін легеневої тканини за умов ГГц. Окремі клінічні дослідження демонструють лише наявність кореляцій між рівнем Гц в плазмі крові та такими хворобами органів дихання, як ХОЗЛ і БА. Висловлюються також припущення, що дана амінокислота може бути використана в якості неспецифічного маркера раку легень [70, 78, 105].

Ретельний аналіз літератури показав, що одним із основних таргетів токсичної дії Гц на легені є судинна система органу. Доказом цього є порушення реактивності легневих артерій при ГГц внаслідок ОС. За даними окремих авторів, не виключеною є пряма пошкоджуюча дія Гц на паренхіму органу та компоненти позаклітинного матриксу, особливо еластичні волокна. Д. В. Медведєв та ін. [37-39] вивчали особливості метаболічних змін в легнях щурів при ГГц. Ними встановлено, що значний парціальний тиск O_2 в органі відіграє дуже важливу роль в розвитку тут ОС. Підвищення рівня Гц в легневій тканині призводить до активної продукції O_2^{\cdot} ; зміни активності мітохондріальних ферментів, зокрема сукцинатдегідрогенази (SDH, EC 1.3.5.1).

Значна продукція АФК в легенях є причиною підвищеної окисної модифікації протеїнів мітохондрій, що порушує функціонування органел (процеси тканинного дихання та окисного фосфорування). Автори зазначають, що моделювання стану ГГц на щурах супроводжується накопиченням Гц саме в мітохондріях легень, який проявляє по відношенню до них пряму токсичну дію. Дослідники пов'язують даний факт з наявністю на внутрішній мембрані органел специфічного транспортера SAM (SAM carrier), що переносить останній в матрикс, а SAH в зворотньому напрямку. Спостерігали також порушення синтезу NO в мітохондріях клітин легеневої тканини. Важливою знахідкою було те, що важка ГГц супроводжувалась зростанням інтенсивності карбонілування протеїнів. При цьому окисній деградації піддавались нейтральні і основні амінокислоти. Виражений ОС в легенях значно знижував резервно-адаптаційний потенціал білків мітохондрій, а активність антиоксидантного захисту зростала. Підвищення рівня СОД було характерною особливістю для дослідної групи щурів.

Клінічні дослідження останніх років демонструють наявність взаємозв'язку між рівнем плазмового Гц та БА. Як зазначено в наукових джерелах, в пацієнтів з БА було виявлено зростання концентрації даної амінокислоти, при цьому ступінь вираженості ГГц значно варіював. У групі хворих, де діагностовано ГГц характерним було значне зниження коефіцієнта ендотеліальної функції та підвищення вмісту натрійуретичного пептиду С. Встановлені дані дозволили авторам стверджувати факт розвитку дисфункції ендотелію за умов ГГц у хворих на БА [13].

А. А. Da Cunha та ін. [100] довели, що моделювання на щурах стану хронічної ГГц зумовлює ураження легеневої тканини. При цьому характерним є активація ПОЛ, окисне ушкодження протеїнів, порушення в системі антиоксидантного захисту. Зниження рівня глутатіону, GP свідчили про участь їх в знешкодженні вільних радикалів.

На сьогоднішній день встановлено, що Гц є предиктором ХОЗЛ. Значне зростання його концентрації в крові стає причиною погіршення перебігу

хвороби, розвитку коморбідної патології. Причини ГГц при ХОЗЛ не є чітко встановленими, однак характерною особливістю за даних умов є недостатність в зазначеній групі пацієнтів вітамінів В₆, В₉, В₁₂. Відомо також, що в перебігу хвороб дихальної системи значна роль належить не лише Гц, але і балансу в системі Н₂С / Гц. За нормальних умов Н₂С має антиоксидантні, протизапальні властивості, попереджує розвиток фіброзу і пошкодження тканини легень. В пацієнтів з бронхо-легеневою патологією виявляють значне зниження концентрації Н₂С, зростання Гц, що разом з обтяжуючими факторами (надмірна вага тіла, шкідливі звички, дисліпідемія) стають підґрунтям для запуску вільнорадикальних процесів в тканині легень [93, 110, 117, 134, 212].

Нещодавні дослідження на мишах демонструють, що стійка експериментальна ГГц в поєднанні з тривалою експозицією тварин тютюновим димом є причинами розвитку вираженої емфіземи легеневої тканини, що на субмікроскопічному рівні проявлялась у вигляді масивної загибелі альвеолярних клітин. Встановлений факт на думку авторів є наслідком стресу ЕПС, який активує сигнальні шляхи апоптозу альвеолоцитів [79, 143, 160].

Порушення обміну фолатів внаслідок дефіциту або зниження активності МТНFR призводять до зниження в організмі амінокислоти метіоніну з одночасним зростанням рівня Гц. Останній, накопичуючись в значній кількості, стає причиною розвитку гіперреактивності дихальних шляхів, змін клітинного складу легеневої паренхіми, інфільтрації її еозинофілами, а також підвищенням концентрації запальних цитокінів [107, 167].

Згідно сучасних уявлень, ГГц та дефіцит фолатів вважають ризиками розвитку раку легень. Для клітин злоякісних новоутворень типовим є дуже швидкий ріст та значна потреба в метіоніні внаслідок високої інтенсивності процесів білкового синтезу та трансметилування. Здорові клітини організму здатні покривати потреби в зазначеній амінокислоті шляхом реметилування Гц. Клітини пухлин легень, молочної залози, нирок, товстої кишки, сечового міхура є метіонін-залежними, оскільки не здатні самостійно конвертувати Гц в метіонін, результатом чого є підвищення Гц в крові і накопичення в тканинах

організму. При цьому рівень його тісно корелює з концентрацією фолатів. Дефіцит вітамінів В₉ та В₁₂ призводить до гіпометилування цитозину в ДНК, репресії онкосупресорних генів, активації проонкогенів та індукції злоякісної клітинної трансформації [116, 198, 204, 219].

Таким чином, ГГц на сьогоднішній день є одним із факторів ризику виникнення і прогресування бронхо-легеневої патології. Вивчення даної проблеми є актуальною задачею сьогодення, оскільки хвороби дихальної системи належать до розповсюджених захворювань серед населення України та світу. У зв'язку з високим ступенем поширеності серед працездатного населення, неухильного прогресування, несприятливого впливу на коморбідні стани, їх відносять до глобальних проблем охорони здоров'я. Зазначені факти стають визначальними чинниками для пошуку не лише новітніх методів ранньої діагностики та ефективного лікування хвороб органів дихання, але і їх достовірних предикторів, одним з яких є підвищений рівень амінокислоти Гц. Крім того, надзвичайно важливим є дослідження не лише кореляцій між ступенем зростання вмісту в крові Гц та ризиком появи патології дихальної системи, але і особливостей морфологічних змін структури легеневої тканини на світлооптичному та електронно-мікроскопічному рівнях, що дозволить поглибити знання науковців щодо даної проблеми. Наразі в наукометричних базах даних знайдено обмежену кількість інформації з зазначеного питання, а дослідження стосовно закономірностей гістологічних змін органу при ГГц у віковому аспекті не проводились, що і визначає важливість даної роботи.

РОЗДІЛ 2

ЗАГАЛЬНА МЕТОДИКА Й ОСНОВНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Загальна методика і об'єкти дослідження

Експериментальне дослідження виконане з дотриманням міжнародних рекомендацій про проведення медично-біологічних досліджень з використанням тварин згідно з «Загальними принципами роботи на тваринах», затвердженими I Національним конгресом з біоетики (Київ, Україна, 2001) і погоджене з положеннями «Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, Франція, 1986) [16]. Дотримання етичних принципів роботи засвідчено комітетом з біоетики Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова (протокол № 6 від 06.09.2018 та протокол № 6 від 02.09.2021).

Досліди проведені на 64 білих нелінійних щурах-самцях з вихідною масою 61-335 г, отриманих з віварію ВНМУ ім. М. І. Пирогова. Всі тварини перебували в стандартних умовах віварію з 12-годинним режимом день/ніч, воду і збалансований гранульований корм отримували *ad libitum* у відповідності до нормативів [26]. Через визначені умовами експерименту проміжки часу тварин знеживлювали методом декапітації під тіопенталовим наркозом (тіопентал натрію 100 мг/кг в/оч). Всі маніпуляції проводили в стандартних умовах з 9^{00} до 10^{00} . Загальний стан тварин, кількість спожитого корму та води оцінювали щоденно. Контрольне зважування щурів проводили кожні 7 днів.

В ході експерименту тварин поділено на дві групи – 1) контрольну, 2) дослідну. Кожна група розподілена на підгрупи залежно від віку, а саме – статевонезрілі щури (1-2 місяці), дорослі щури (6-8 місяців), старі щури (24-26 місяців). Модель хронічної ГГц створювали шляхом введення D,L-тіолактон

гомоцистеїну гідрохлориду (Acros Organics, Італія) в дозі 200 мг/кг маси тіла внутрішньошлунково (в/шл) на 1% розчині крохмального гелю (1 мл /100 г маси щура) 1 раз на добу упродовж 8 тижнів [46, 50]. Згідно даних літератури, в/шл введення такої дози тіолактону Гц дозволяє підвищити рівень його в крові експериментальних тварин більше, ніж у 2 рази, і не викликає загибелі їх при тривалому введенні. Щурам контрольної групи в/ш вводили лише 1 % розчин крохмального гелю 1 мл /100 г маси щура 1 раз на добу упродовж 8 тижнів (табл. 2.1).

Таблиця 2.1

Розподіл щурів за групами експерименту.

Група	Підгрупи	Речовини, які вводили тваринам
Контроль	Статевонезрілі щури (n=11)	1 % розчин крохмального гелю 1 мл /100 г ваги 1 р/д 8 тижнів
	Дорослі щури (n=11)	
	Старі щури (n=10)	
Дослід	Статевонезрілі щури (n=11)	D,L-тіолактон гомоцистеїну гідрохлориду 200 мг/кг ваги в/шл на 1 % розчині крохмального гелю 1 р/д 8 тижнів
	Дорослі щури (n=11)	
	Старі щури (n=10)	

2.2. Методи дослідження

2.2.1. Біохімічні і лабораторні.

Реактиви та обладнання. У роботі було використано наступні реактиви: тіобарбітурова кислота, 2,4-динітрофенілгідразин, кверцитин, трихлороцтова кислота, феротіоціанат амонію, казеїн, NaOH, 0,05 М (рН=7,4) фосфатний буфер, етилендіамінтетраоцтова кислота (ЕДТА), фенілметилсульфонілфторид (PMSF).

Також були використані реактиви: 0,05 М Трис-НСl буфер (рН=7,4), Tween-20, сухе молоко, Бредфорд розчин, H_2O_2 ; первинні антитіла для матричних металопротеїназ; поліклональні анти-кролячі антитіла коньюговані з пероксидазою хрону, субстрат для пероксидази хрону о-фенілендіамін (OPD) виробництва фірми «Sigma», США. Решта хімічних реактивів (солі, кислоти, луги) була кваліфікації «чда» та «хч».

При проведенні досліджень використовували наступне обладнання: набір “Homocysteine EIA” (Axis-Shield, Англія), автоматичний аналізатор STAT FAX 303 / PLUS, спектрофотометр СФ-26, імуноферментний набір “Rat TGF beta 1 Platinum ELISA” (eBioscience, Австрія), набір СРБ-ИФА-БЕСТ (Вектор-Бест, РФ), апарат для препаративного вертикального диск-електорофорезу (BioRad, США), центрифуга СМ-6М «ELMI»; центрифуга Allegra 64R «Beckman Coulter»; мікропланшетний рідер виробництва фірми «BioTec» США; спектрофотометр «Smart Spec Plus» виробництва фірми «BioRad», США; автоматичні піпетки та дозатори «Humapette»; магнітні мішалки, піпетки автоматичні, термостати і т.д. є продукцією фірм, що працюють згідно стандарту ISO 9001; пластиковий лабораторний посуд (планшети для імуноферментного аналізу; планшети з несорбуючою поверхнею; еппендорфи, пробірки та інше отримано від фірми Sente-Lab; скляний лабораторний посуд (колби, стакани, пробірки, циліндри та інше) фірми Simax.

Біохімічні дослідження виконані на базі кафедри біологічної та загальної хімії і науково-дослідної клініко-діагностичної лабораторії ВНМУ ім. М. І. Пирогова (свідоцтво МОЗ України про переатестацію № 049/15 від 02.03.2015 р.), а також кафедри біохімії КНУ імені Тараса Шевченка.

Техніка забору та приготування матеріалу для досліджень. Кров отримували під час декапітації, центрифугували при 1500 g 20 хв за температури 18-22 °С, відбирали аліквоти сироватки крові в мікропробірки Eppendorf і до проведення досліджень зберігали при -20 °С.

Легені відокремлювали від крупних бронхів та трахеї, перфузували холодним 1,15 % розчином калію хлориду, гомогенізували в скляному

гомогенізаторі з тефлоновим пестиком в середовищі 1,15 % калію хлориду (спів-відношення 1:3) при 3000 об/хв. упродовж 5 хв. Гомогенати центрифугували упродовж 30 хв. при 600 g, відбирали аліквоти постядерного супернатанту в мікропробірки Eppendorf і до проведення досліджень зберігали при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Вміст Гц в сироватці крові визначали з використанням набору «Homocysteine EIA» (Axis-Shield, Англія) у відповідності до інструкції фірми-виробника. Принцип методу полягає в тому, що білково-зв'язаний Гц відновлюється до вільного Гц, який потім перетворюється в SAH ензиматичним шляхом. Далі кількість SAH в зразках визначається методом ІФА. В лунки планшетів, на стінках яких адсорбовані антитіла до SAH, додавали по 25 мкл стандартних розчинів (з відомими концентраціями SAH), контрольних проб та проб плазми (сироватки) крові, 200 мкл моноклональних анти-SAH-антитіл. Інкубували 30 хв. при $18-25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Лунки відмивали від надлишку незв'язаних реагентів, вносили в них 100 мкл ензиму та інкубували упродовж 20 хв. при $18-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ для утворення на твердій фазі комплексу АТ-АГ-АТ- ензим. Потім лунки знов відмивали від надлишку незв'язаних реагентів і вносили 100 мкл субстратного розчину, який реагує зі зв'язаним на твердій фазі ензимом з утворенням забарвленої речовини, інкубували 10 хв. при $18-25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Реакцію зупиняли 100 мкл стоп-розчину і фотометрували при 450 нм (диференційний фільтр 630 нм) на автоматичному аналізаторі STAT FAX 303/PLUS. Чутливість набору $<1,0$ мкмоль/л, коефіцієнт варіації $<10\%$.

Рекомендована інтерпретація діапазону концентрацій Гц: низький рівень – 5,6-8,4 мкмоль/л, середній – 10,0-15,0 мкмоль/л, високий – 20,0-30,0 мкмоль/л.

Рівень малонового діальдегіду (МДА) визначали за реакцією з тіобарбітуровою кислотою. МДА утворює з тіобарбітуровою кислотою при нагріванні в кислому середовищі забарвлений комплекс червоного кольору з максимумом світлопоглинання при 535 нм. Для розрахунку користувались молярним коефіцієнтом екстинції – $1,56 \times 10^5\text{ см}^{-1}\text{ M}^{-1}$ [29].

Рівень карбонільних груп окисно-модифікованих протеїнів оцінювали за реакцією з 2,4-динітрофенілгідразином [18]. В процесі окиснення протеїнів в аліфатичних амінокислотах формуються карбонільні групи, які при взаємодії з 2,4-динітрофенілгідразином утворюють фенілгідразони із характерним спектром поглинання при довжині хвилі 490 нм. До 0,1 мл гомогенату легень додавали 0,5 мл 0,5 М хлоридної кислоти, 0,2 мл 0,2 % розчину 2,4-динітрофенілгідразину у 0,8 М хлоридній кислоті. Суміш інкубували 10 хв. при 20⁰С, осаджували протеїни 0,3 мл 10 % розчину CCl_3COOH , центрифугували 10 хв. при 3000 об/хв. Осад двічі промивали 1,0 мл 5 % розчину CCl_3COOH , центрифугували 10 хв. при 3000 об/хв. До осаду протеїнів додавали 1 мл 0,9 % розчину NaCl та 1 мл 5 % розчину NaOH. Інкубували 20 хв. при 20-22 °С. Фотометрували при 490 нм.

Активність SOD визначали за ступенем гальмування окиснення кверцетину [32].

Вміст молекул середньої маси (МСМ) в сироватці крові та гомогенатах легень щурів визначали за методом Ліфшиць Р. І. [34, 55]. До 0,2 мл сироватки крові (гомогенату) додавали 1,8 мл 10 % розчину трихлороцтової кислоти, центрифугували при 3000 об/хв. протягом 30 хв., відділяли супернатант. До 0,5 мл супернатанту додавали дистильовану воду у співвідношенні 1:10, визначали оптичну щільність при довжині хвилі 254 нм (катаболічний пул MSM_1) та 280 нм (анаболічний пул MSM_2) на спектрофотометрі СФ-26. Результати наведені в умовних одиницях, що відповідають показникам оптичної щільності.

Вміст загальних фосфоліпідів в гомогенаті легень визначали екстракційно-фотометричним методом за утворенням гідрофобного комплексу з феротіоціанатом амонію [48].

Вміст TGF β визначали імуноферментним методом за набором «Rat TGF beta 1 Platinum ELISA» (eBioscience, Австрія) відповідно до інструкції фірми-виробника. Зразки сироватки крові перед проведеннями ІФА готували наступним чином: до 20 мкл сироватки крові додавали 920 мкл буферного

розчину (PBS, 1 % Tween 20, 10 % BSA), 30 мкл 1 М HCl, перемішували, інкубували 60 хв. при кімнатній температурі, нейтралізували додаванням 30 мкл 1 М NaOH. Ретельно перемішували.

В лунки планшетів, на стінках яких адсорбовані антитіла до TGF β , додавали по 80 мкл буферного розчину, 20 мкл стандартних розчинів (з відомими концентраціями TGF β – 0; 31,3; 62,5; 125; 250; 500; 1000; 2000 пг/мл), контрольних проб та проб сироватки крові, герметизували адгезивною плівкою, інкубували 2 год. при 18-25 °С на шейкері. Лунки відмивали від надлишку незв'язаних реагентів, вносили в них 100 мкл кон'югату антитіл до TGF β з біотином, герметизували адгезивною плівкою, інкубували 1 год. при 18-25 °С. Потім лунки знов відмивали від надлишку незв'язаних реагентів і вносили 100 мкл ензимного кон'югату (стрептавідин-пероксидаза хріна), герметизували адгезивною плівкою, інкубували 30 хв. при 18-25 °С. Лунки відмивали від надлишку реагентів, вносили 100 мкл хромогену – тетраметилбензидину (ТМВ-субстрату), інкубували 30 хв. при 18-25 °С в темноті, реакцію зупиняли 100 мкл стоп-розчину і фотометрували при 450 нм (диференційний фільтр 630 нм) на автоматичному аналізаторі STAT FAX 303/PLUS. Коефіцієнт варіації <10 %, аналітична чутливість методу – 7,8 пг/мл TGF β . При обчисленні результатів врахований фактор розведення проб.

Вміст С-реактивного білка (СРБ) в сироватці крові визначали імуноферментним методом за набором СРБ-ИФА-БЕСТ (Вектор-Бест, РФ). Чутливість набору $\leq 0,05$ мг/л, коефіцієнт варіації <10 %. Детекція проводилась на автоматичному аналізаторі STAT FAX 303/PLUS при довжині хвилі 450 нм (диференційний фільтр 630 нм).

Визначення загальної протеолітичної активності. Загальну активність протеїназ у зразках аналізували методом визначення казеїнолітичної активності з наступними модифікаціями. 500 мкл гомогенату тканин доводили 0,05 М (рН 7,4) фосфатним буфером до об'єму 1 мл [89]. Перемішували та додавали 1 мл 4 % казеїну. Далі інкубували впродовж 30 хв. у термостаті при +37⁰. Реакцію зупиняли додаванням 3 мл 15 % ТХО з наступним центрифугуванням

при 2000 об/хв. впродовж 30 хв. Надосадову рідину відбирали та визначали екстинцію при довжині хвилі 280 нм. Контрольний зразок складався з суміші казеїну, відповідного фосфатного буфера та ТХО у ідентичних співвідношеннях. Казеїнолітичні одиниці обчислюються за формулою:

$$K.o/1mg.білка = \Delta E_{280} \times K/A, \quad (2.1)$$

де ΔE – E холостої проби - E досліджуваної проби; K – 1,3; A – кількість білка в пробі (мг).

% інгібування визначаємо за формулою:

$$[1 - (E_2 / E_1)] \times 100 \%, \quad (2.2)$$

де E_2 – значення оптичної щільності проби за присутності інгібітора; E_1 – значення оптичної щільності проби без інгібітора.

Для приготування 4 % казеїну наважку реактиву масою 4 г розчиняли в 80 мл 0,05 М фосфатного буфера рН 7,4 і 1,6 мл 1 М NaOH. Суміш залишали при кімнатній температурі на 40 хв. для набухання. Після чого кип'ятили 15 хвилин на водяній бані. Після охолоджували, рН розчину казеїну доводили до 7,4 1 М NaOH та доводили об'єм до 100 мл фосфатним буфером.

Метод визначення вмісту ММР у гомогенатах легень щурів. Визначення вмісту ММР у гомогенатах легень здійснювали з допомогою методу імуноферментного аналізу у 96-лункових мікропланшетах із сорбційною здатністю за стандартною методикою для розчинних білків [99]. Антиген розводили за допомогою 0,05 М Трис-HCl-буфері, рН 7,4 до концентрації 1 мкг/мл та інкубували в лунках планшетів при 4 °С упродовж ночі. Після інкубації, для видалення антигену, що не зв'язався, лунки промивали буфером для іммобілізації. Блокування неспецифічних місць зв'язування проводили шляхом інкубації з 5 % розчином знежиреного молока протягом однієї години при 37 °С. Після інкубації лунки відмивали робочим буфером з вмістом 0,1 %

Tween-20 та інкубували з розчином первинних антитіл для матричних металопротеїназ, розведення яких було 1:3000 впродовж однієї години при 37 °С. Надалі проводили відмивку робочим буфером з 0,1 % вмістом Tween-20 та інкубували з вторинними антитілами, кон'югованими з пероксидазою хрому (розведення 1:3000) протягом однієї години при 37 °С. По закінченню інкубації лунки знову відмивали буфером з вмістом 0,1 % Tween-20 та інкубували з субстратом о-фенілендіаміну (OPD), концентрацією 0,4 мг/мл розведеному у 0,05 М фосфатно-цитратному буфері з додаванням 30 % H_2O_2 для візуалізації зв'язування вторинних антитіл. Пероксидазну реакцію зупиняли шляхом додавання 100 мкл 1 М H_2SO_4 через 10 хв. Оптичне поглинання вимірювали за довжини хвилі 492 нм на мікропланшетному спектрофотометрі.

Кількісне визначення білка. Кількість білка визначали за методом Bradford [87]. Даний метод ґрунтується на здатності барвника Кумасі діамантово-синього G-250 змінювати забарвлення при зв'язуванні з білком, при цьому максимум поглинання зміщується відповідно з 465 до 595 нм. За таких умов концентрація барвника, що зв'язалась з білком прямопропорційна кількості білку в пробі.

Для визначення концентрації білка до проби додавали 30 % розчин NaOH, дистильовану воду та робочий розчин реактиву Бредфорд. Для приготування робочого розчину змішували стоковий розчин реактиву, 95 % етанол та 88 % ортофосфорну кислоту за співвідношення 2:1:2 та доводили водою до об'єму 100 мл. Стоковий розчин містив 10 мл 95 % етанолу, 20 мл 88 % ортофосфорної кислоти та 35 мг кумасі діамантового синього. Інтенсивність забарвлення, яке утворювалось через 2-5 хв., вимірювали спектрофотометрично при довжині хвилі 595 нм проти контролю, який замість проби містив дистильовану воду. Концентрацію білка у досліджуваному зразку визначали за калібрувальним графіком і виражали у мг/мл.

Приготування проб для електрофорезу. Для одержання чіткої картини у поліакриламідному гелі (ПААГ) застосовують метод концентрування зразків за допомогою трихлороцтової кислоти (ТХО). Для цього зразки в мікропробірках змішують з 55 % ТХО у співвідношенні 1:1 і залишають на 10 хв. Після п'яти хвилинного центрифугування при 10 000 g зливають надосадову рідину. Додають

0,5 мл ацетону на пробу і знову центрифугують. Процедуру з ацетоном повторюють 2-3 рази, після чого зразки залишають на ніч для випаровування залишків ацетону.

Після випаровування зразки розчиняють у буфері для електрофорезу, що містив 0,01 М трис-НСІ буфер, рН 6,8, 2 % додецилсульфат натрію, 10 % сахарозу та 0,01 % бромфенолового синього, у співвідношенні 1:1. Для диск-електрофорезу зразки прогрівали впродовж 2 хв., у той час як проби для ензим-електрофорезу нагріванню не піддавали.

Диск-електрофорез в поліакриламідному гелі за присутності додецилсульфату натрію. Для отримання електрофореграми проводили диск-електрофорез за методом Леммлі [138]. Камера для вертикального електрофорезу є пластиковим резервуаром з анодними та катодними буферними відсіками, в яких містяться відповідні електроди (Bio-Rad laboratories inc., 2015). Для дослідження готували пластини гелю товщиною 1 мм, застосовували 12 % ПААГ в якості гелю для розділення макромолекул, а також використовували 4 % ПААГ в якості гелю для концентрації досліджуваних зразків. Для проведення електричного струму через електроди в камері для форефу готували електродний буфер, котрий містив Tris, гліцин та додецилсульфатнатрію (ДСН).

Гель для розділення макромолекул (12 % ПААГ) вносили між двома зафіксованими в положенні скельцями, котрі були зафіксовані бортами знизу та по бокам. Після внесення гелю очікували 1 год до повної полімеризації останнього. Зразки, котрі містять білки поміщали у лунки, сформовані в ПААГ для концентрації, котрий вносили над гелем для розділення, в якому вже відбулась полімеризація. Електроди камери для вертикального електрофорезу (матеріал – платина) підключали до гнізда джерела живлення PowerPac Basic Power Supply (Bio-Rad). При проведенні досліді застосовували силу струму 19 мА в час проходження білкового вмісту зразків через гель для концентрації. В фазі проходження білкового вмісту зразків через гель для розділення – застосовували силу струму 38 мА (Bio-Rad laboratories inc., 2015).

По проходженню вищеописаних процедур, отриманий гель забарвлювали розчином кумасі G-250 (0,125 %), котрий містить 96 % етанол, ізопропанол, а також концентровану оцтову кислоту. Після забарвлення, пластину гелю промивали в 8 % розчині оцтової кислоти протягом години. За допомогою камери CANON IXUS 185

фотографували в цифровому форматі. За допомогою програмного забезпечення від лабораторії TotalLab – CLIQS Gel Image Analysis Software аналізували досліджувані зразки.

Аналіз фракції пептидного пулу методом хроматографії, що поділяє за розмірами. Для розділення фракції пептидного пулу використовували хроматографію, що розподіляє за розміром [120]. Аліквоти об'ємом в 1 мл наносили на колонку з сефадексом Ж 15 в 0,05 М Тріс-НСl буфері, рН 7,4, з додаванням 130 мМ NaCl. Стабільна швидкість нанесення складала 0,5 мл/хв. Для калібрування колонки застосовували стандартні маркерні речовини з відомою молекулярною масою.

Статистичну обробку отриманих результатів досліджень проводили, використовуючи комп'ютерні програми Origin 7.0, TotalLab 2.01. та Microsoft Exel. Достовірними вважали відмінності при $p < 0,05$.

2.2.2. Гістологічні.

Для мікроскопічного дослідження забирали шматочки легень у попередньо зважених тварин всіх груп. Шматочки фіксували в 10 % розчині формаліну, при цьому тривалість експозиції не перевищувала 1 – 2 доби. Застосований фіксує розчин запобігає процесу аутолізу та стабілізує клітини і тканини для їх подальшої обробки, та використання в процедурах забарвлення. Далі проводили дегідратацію шматочків в спиртах зростаючої концентрації та заливали в парафінові блоки. Виготовлені зрізи, товщиною 4 – 5 мкм забарвлювали гематоксиліном і еозином, метиленовим-синім та проводили імпрегнацію сріблом за методом Гордона-Світса (для виявлення базальних мембран, ретикулярних та незрілих колагенових волокон). Гістологічні препарати вивчали за допомогою світлового мікроскопа SEO SCAN та фотодокументували за допомогою відеокамери Vision CCD Camera з системою виводу зображення з гістологічних препаратів [15].

2.2.3. Ультроструктурні.

Електронномікроскопічно досліджено респіраторний відділ легень експериментальних щурів. Матеріал фіксували в 1 % розчині чотирьохокису осмію за

Колфільдом. Зневоднювали у спиртах зростаючої концентрації (70 %, 80 %, 90 %, 100 %) та ацетоні. Заливали в суміш епон-аралдит, згідно загальноприйнятій методиці [28]. З отриманих блоків виготовляли напівтонкі зрізи, які забарвлювали толуїдиновим синім та за Хаят. Після прицільної орієнтації на напівтонких зрізах на ультратомах LKB III (Швеція) та Reihart (Австрія) виготовляли ультратонкі зрізи, які контрастували 2 % розчином уранілацетату та цитратом свинцю. Препарати досліджували та фотографували під електронним мікроскопом ПЕМ-125К при збільшеннях в 4–10 тисяч раз.

2.2.4. Математичної статистики.

Були визначені такі основні морфометричні параметри:

- площа альвеолоцитів II типу;
- кількість пластинчастих тілець у 1 альвеолоциті II типу;
- питома кількість пластинчастих тілець (площа цитоплазми альвеолоцита II типу, де можна знайти принаймні 1 пластинчасте тільце);
 - площа пластинчастого тільця;
 - сумарна площа пластинчастих тілець у 1 альвеолоциті II типу;
 - питома площа пластинчастих тілець (частка площі альвеолоцита, що припадає саме на пластинчасті тільця);
- щільність пластинчастих тілець (в градаціях сірого від 0 до 255).

Морфометричне дослідження виконувалося із застосуванням програми аналізу біомедичних зображень ImageJ ver. 1.50 (NationalInstitutesofHealth, США, open-source).

Статистичну обробку отриманих даних виконували за допомогою програмного забезпечення Prizm 8.1.0 for Windows (GraphPadSoftware, США, freetrialperiodtoMay, 15, 2019 atMachineID 95570C5DBF4).

РОЗДІЛ 3

БІОХІМІЧНІ ЗМІНИ ЛЕГЕНЬ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ ЗА УМОВ ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЇ

Підвищення концентрації плазмового Гц є важливим маркером появи патологічних змін в тканинах організму [201]. Саме тому на початку дослідження важливим є визначення його рівнів в крові експериментальних тварин. Отримані дані дають змогу встановити вікові відмінності концентрації Гц у групі контролю, а також ступінь вираженості ГГц у щурів дослідної групи, в порівнянні з контрольною. Таблиця 3.1 демонструє, що у старих тварин контрольної групи рівень Гц був дещо вищим, ніж в дорослих і статевонезрілих, але не виходив за межі встановлених норм. У щурів групи досліду спостерігали значне підвищення концентрації Гц, в порівнянні з контрольними – в 3,2 рази у статевонезрілих, 3,2 рази у дорослих і 2,8 рази у старих.

Таблиця 3.1

Рівень загального ГЦ в сироватці крові щурів різного віку.

Підгрупи щурів		Умови дослідження	Гомоцистеїн, мкмоль/л
1	Статевонезрілі щури	Контроль	5,41±0,44
		ГГц	17,50±1,78 ^{***}
2	Дорослі щури	Контроль	5,65±0,91
		ГГц	18,10±0,76 ^{***}
3	Старі щури	Контроль	7,31±0,39 [#]
		ГГц	20,70±2,13 ^{***}

Примітки: 1. * – $p < 0,05$ відносно контролю у відповідній групі (***) – $p < 0,001$); 2. # – $p < 0,05$ відносно статевонезрілих щурів; 3. § – $p < 0,05$ відносно дорослих щурів.

Органи дихання посідають особливе місце з точки зору можливості протікання тут процесів вільнорадикального окислення. В легенях відбувається

безпосередня взаємодія тканин з O_2 . Оскільки в основі їх будови наявна значна кількість поліненасичених жирних кислот (ПНЖК), створюються сприятливі умови для запуску ПОЛ. Різні чинники, в тому числі ГГц, спричиняють надмірну продукцію АФК. Останні за нормальних умов утилізуються компонентами системи антиоксидантного захисту, захищаючи клітини від дії вільних радикалів. Одним із визначальних ферментів, що елімінує АФК є SOD [31]. В нашому експерименті у тварин дослідної групи визначалось зниження рівня SOD, в порівнянні зі щурами контрольної групи. Даний факт є свідченням виснаження запасів ензиму та посилення використання його для боротьби з вільними радикалами (див. табл. 3.2).

Таблиця 3.2

Вплив ГГц на показники оксидативного стресу та активність SOD в легенях щурів різного віку.

Підгрупи щурів		Умови дослідження	МДА, мкмоль/мг протеїну	Карбонільні групи, нмоль/мг протеїну	SOD, ум.од./мг протеїну
1	Статевонезрілі щури	Контроль	3,17±0,09	0,87±0,09	2,73±0,33
		ГГц	4,34±0,18*	1,19±0,08*	1,85±0,14*
2	Дорослі щури	Контроль	3,22±0,25 [#]	1,03±0,07 [#]	3,47±0,08 [#]
		ГГц	4,73±0,24**	1,32±0,09*	2,39±0,19** [#]
3	Старі щури	Контроль	3,97±0,34 [#]	1,21±0,06 ^{#§}	2,52±0,22 [§]
		ГГц	6,89±0,39** ^{#§}	1,85±0,08** ^{#§}	1,71±0,23* [§]

Примітки: 1. * – $p < 0,05$ відносно контролю у відповідній групі (** – $p < 0,01$); 2. # – $p < 0,05$ відносно статевонезрілих щурів; 3. § – $p < 0,05$ відносно дорослих щурів.

Також нами проведено визначення рівнів МДА. Останні з'являються в організмі при деградації ПНЖК за умови значної кількості АФК та є маркерами ПОЛ і ОС. Результати дослідження демонструють зростання вмісту МДА в

статевонезрілих, дорослих, старих тварин групи досліду, в порівнянні з контролем – в 1,36, 1,46 та 1,7 рази відповідно (див. табл. 3.2).

Крім активації ПОЛ, ГГц асоціюють з окисною модифікацією білків. При цьому характерною є підвищена акумуляція продуктів їх метаболізму, а саме карбонільних груп [4, 25,111,139]. Окислення протеїнів є достовірним маркером інтенсивності протікання ОС [71]. В нашому експерименті у щурів з ГГц встановлено зростання концентрації карбонільних груп протеїнів в тканині легень, в порівнянні з групою контролю – у статевонезрілих тварин в 1,36 рази, дорослих – 1,28 рази, старих – 1,5 рази (див. табл. 3.2).

Активація ПОЛ ймовірно є причиною значного зниження вмісту загальних фосфоліпідів в тканині легень щурів дослідної групи усіх вікових категорій, в порівнянні з контролем. Таблиця 3.3 демонструє, що в статевонезрілих тварин з ГГц даний показник зменшувався у 1,45 рази, дорослих – 1,23 рази, старих – 1,3 рази.

Активація ОС призводить до розвитку деструктивних процесів, що лежать в основі неспецифічного синдрому ендогенної інтоксикації. Одним із маркерів останнього є МСМ [27, 58, 75, 80, 155, 206]. Вони належать до сполук білкової природи з молекулярною масою 300-5000 Да. МСМ є токсичними продуктами деградації протеїнів, які здатні накопичуватись у фрагментованому вигляді в тканинах. У щурів з ГГц ми спостерігали значне підвищення рівнів МСМ в тканині легень (див. табл. 3.3) та в сироватці крові (див. табл. 3.4), в порівнянні з контрольними тваринами.

Таблиця 3.3

Вплив ГГц на вміст загальних фосфоліпідів та МСМ в легенях щурів різного віку.

Підгрупи щурів		Умови дослідження	Фосфоліпіди, мкг/мг протеїну	МСМ ₁ , ум.од.	МСМ ₂ , ум.од.
1	Статевонезрілі щури	Контроль	78,5±5,30	0,56±0,02	0,23±0,02
		ГГц	53,9±4,21*	1,85±0,04***	0,82±0,07***

Продовження табл. 3.3

2	Дорослі щури	Контроль	84,10±2,48	0,58±0,03	0,24±0,01
		ГГц	68,00±4,57* [#]	1,36±0,05*** [#]	0,53±0,04*** [#]
3	Старі щури	Контроль	85,30±6,06	0,65±0,04	0,27±0,02
		ГГц	63,60±3,23*	1,43±0,08*** [#]	0,61±0,04* [#]

Примітки: 1. * – $p < 0,05$ відносно контролю у відповідній групі (** - $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$); 2. # – $p < 0,05$ відносно статевонезрілих щурів; 3. § – $p < 0,05$ відносно дорослих щурів.

Таблиця 3.4

Вплив ГГц на маркери ендогенної інтоксикації та рівень СРБ в сироватці крові щурів різного віку.

Підгрупи щурів		Умови дослідження	МСМ ₁ , ум.од.	МСМ ₂ , ум.од.	СРБ, мг/л
1	Статевонезрілі щури	Контроль	0,28±0,01	0,15±0,01	4,57±0,45
		ГГц	0,63±0,02*	0,31±0,02*	12,70±0,88***
2	Дорослі щури	Контроль	0,34±0,02 [#]	0,14±0,01 [#]	4,96±0,50
		ГГц	0,56±0,04*	0,25±0,03*	15,10±0,57*** [#]
3	Старі щури	Контроль	0,39±0,02 [#]	0,16±0,01 ^{#§}	5,61±0,51
		ГГц	0,51±0,05*	0,29±0,02*	9,77±0,65*** ^{#§}

Примітки: 1. * – $p < 0,05$ відносно контролю у відповідній групі; 2. # – $p < 0,05$ відносно статевонезрілих щурів; 3. § – $p < 0,05$ відносно дорослих щурів.

Підтвердженням ендогенної інтоксикації та запуску запальних процесів було зростання в крові рівня СРБ. У статевонезрілих щурів дослідної групи даний показник збільшувався в 2,8 рази, дорослих – 3 рази, старих – 1,7 рази (див. табл. 3.4).

За умов ГГц характерним є продукція не лише АФК, але і запальних медіаторів, що пошкоджують легеневу тканину. Деструктивні зміни останньої є

фактором, що стимулює експресію TGF β , який виступає причиною важкого, незворотного фіброзу легень [57, 115]. Він стимулює диференціацію фібробластів в міофібробласти та надмірну продукцію компонентів екстрацелюлярного матриксу. В експерименті найбільш вираженою була продукція TGF β у старих щурів з ГГц, що на нашу думку є показником як фізіологічних вікових змін легеневої тканини, так і Гц-індукованого фіброзу. Даний показник зростав по відношенню до контрольної групи тварин в 1,8 рази. В молодих та дорослих щурів дослідної групи TGF β збільшувався в 1,39 та 1,5 рази відповідно, в порівнянні з контролем (див. табл. 3.5).

Таблиця 3.5

Вплив ГГц на рівень TGF β в сироватці крові щурів різного віку

Підгрупи щурів		Умови дослідження	TGF β , нг/мл
1	Статевонезрілі щури	Контроль	34,3 \pm 5,05
		ГГц	47,8 \pm 3,24*
2	Дорослі щури	Контроль	41,8 \pm 2,77
		ГГц	64,8 \pm 6,65*#
3	Старі щури	Контроль	51,2 \pm 2,45#§
		ГГц	92,9 \pm 4,74***#§

Примітки: 1. * – $p < 0,05$ відносно контролю у відповідній групі (***) – $p < 0,001$); 2. # – $p < 0,05$ відносно статевонезрілих щурів; 3. § – $p < 0,05$ відносно дорослих щурів.

На сьогодні дослідження патогенетичних механізмів, що лежать в основі розвитку структурно-функціональних порушень за умов ГГц набувають все більшої актуальності, що зумовлено розширенням етіології цього захворювання. Зважаючи на важливість збереження функціональної активності легеневої тканини, нами було досліджено білково-пептидний склад легень щурів при ГГц.

На першій стадії дослідження оцінювали рівень білків у легенях щурів із ГГц. Стабільний їх рівень є життєво важливим для забезпечення належної

функціональної активності органу. З іншого боку, аномальний білковий профіль, що проявляється зміною їх вмісту, розглядається як ключовий патогенетичний чинник майже всіх захворювань дихальної системи [125, 149]. Як видно з даних таблиці 3.6, вміст загального білка у гомогенаті легень статевонезрілих щурів дослідної групи був майже вдвічі нижчим, порівняно з відповідним показником у групі контрольних тварин.

Таблиця 3.6

Вміст загального білка у гомогенаті легень щурів з ГГц.

Підгрупи щурів		Умови дослідження	Вміст білка, мг/г тканини
1	Статевонезрілі щури	Контроль	32,4±1,5
		ГГц	15,7±0,6*
2	Дорослі щури	Контроль	34,1±1,6
		ГГц	35,7±1,5
3	Старі щури	Контроль	30,5±1,1
		ГГц	25,7± 1,2**

Примітки: 1. * – $p < 0,05$ статистично достовірно відносно контролю статевонезрілих щурів; 2. ** – $p < 0,05$ статистично достовірно відносно контролю старих щурів.

Нами не було виявлено достовірних змін вмісту загального білка у дорослих тварин з ГГц. Зазначений показник у легенях старих тварин із ГГц також був знижений, проте зміна його не була настільки вираженою, як у статевонезрілих щурів. Знижений рівень білка в легенях щурів з ГГц частково може бути зумовлений посиленням протеолізу, і, відповідно, це свідчить про внесок протеолітичного дисбалансу у прогресування порушень, пов'язаних з ГГц [178].

Помірне накопичення АФК може спричинити тимчасове посилення протеолізу внаслідок їх безпосереднього впливу на систему убиквітин-протеасома та індукцію аутофагії. Крім того, АФК здатні неферментативно модифікувати білки, спрямовуючи їх таким чином на шлях протеолітичної

деградації. Слід зазначити, що загальний рівень білка в легенях контрольних тварин в ході нашого експерименту не змінювався з віком і залишався в межах 30-35 мг на г тканини.

Хоча рівень загального білка в легенях контрольних тварин усіх вікових категорій залишався однаковим, склад їх може змінюватися з віком. Окрім того, ГГЦ часто є фактором, що призводить до зміни білкового профілю тканин. Для уточнення цього моменту було проведено електрофоретичний аналіз гомогенатів легень. З огляду на отримані результати (рис. 3.1), можна припустити, що старіння супроводжується перерозподілом білків різної молекулярної маси у легенях.

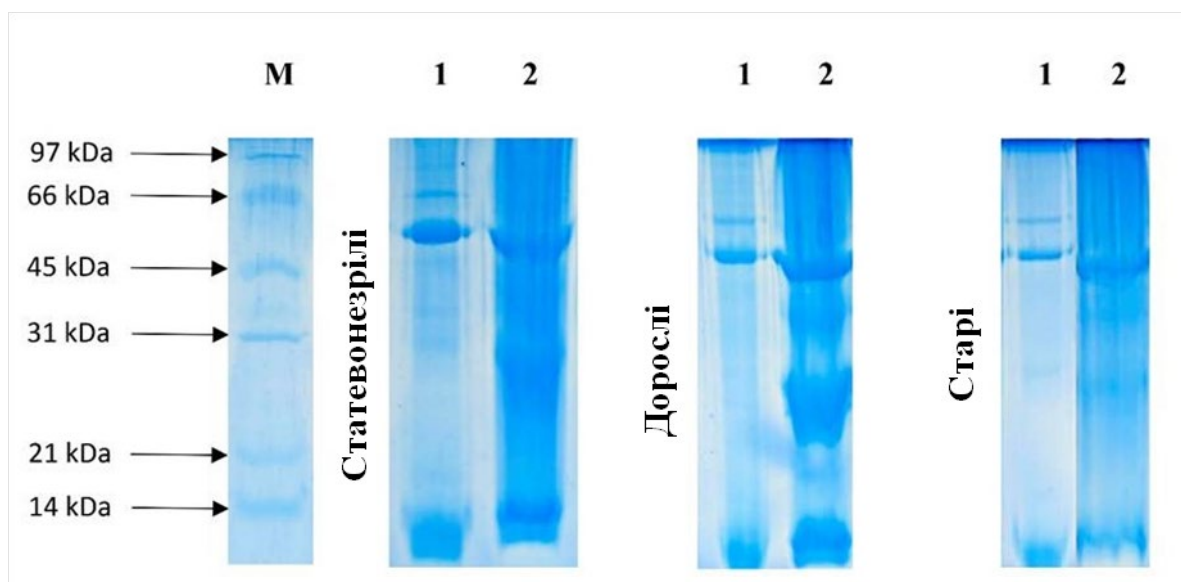


Рис. 3.1. Електрофореграма розділення білків гомогенату легень: М – маркери молекулярних мас; 1 – контрольні тварини; 2 – тварини з ГГЦ.

Так, відсоток білків з молекулярною масою 70-100 кДа становив 3,8 %, 16,9 % та 17,3 % для статевонезрілих, дорослих, старих контрольних тварин відповідно. Водночас рівень білків з молекулярною масою менше 30 кДа зменшувався з віком і становив 56,5 % для молодих тварин, 43,2 % для дорослих тварин та 36,1 % для старих тварин. Згідно з отриманими даними, за ГГЦ відбувається зниження кількості білків з молекулярною масою від 50 кДа до 100 кДа при одночасному збільшенні вмісту тих, що мають молекулярну масу менше 50 кДа (див. табл. 3.7).

Більш виражені зміни даного показника було виявлено у легенях статевонезрілих щурів – рівень білків з молекулярною масою 100-150 кДа знизився у 4,1 рази; 70-100 кДа – у 16,6 рази, тоді як вміст білків з молекулярною масою 30-50 кДа зріс у 11 разів, порівняно з відповідними контролями.

Згідно з концепцією «тканинно-специфічного пептидного пулу» [157, 163], сума всіх пептидів у тканинах розглядається як пептидний пул, який бере участь у забезпеченні гомеостазу органів. Не зважаючи на достатню стабільність пептидних пулів, як рівень пептидів, так і склад окремих з них можуть зазнавати змін за розвитку патологічного процесу. Такі зміни вважаються одним із факторів розладу гомеостазу у відповідь на прогресування захворювання. З іншого боку, завдяки широкому спектру активності [222] пептиди можуть брати участь у процесах відновлення тканин.

З огляду на все вище зазначене, нами було одержано з легень тварин пептидні пули та проаналізовано їх за молекулярною масою і відносним вмістом. Спочатку було визначено відносний вміст пептидів у гомогенаті легень. Виявлено підвищення їх рівня у легенях тварин дослідної групи усіх вікових категорій (див. табл. 3.8).

Так, відносний вміст пептидів зростав у 1,7 рази, 2 рази та 2,2 рази, відповідно для статевонезрілих, дорослих, старих щурів з ГГц. Слід зазначити, що цей показник у легенях контрольних тварин поступово підвищувався з віком і становив 3,22 ум.од/г тканини для контрольних статевонезрілих щурів, 4,93 ум.од/г тканини для контрольних дорослих щурів і 5,23 ум.од/г тканини для контрольних старих щурів.

Надалі пептидні пули аналізували методом хроматографії, що поділяє білки за розмірами. Як видно з таблиці 3.9, пептидні пули в легенях як контрольних тварин, так і тварин з ГГц були представлені чотирма основними фракціями, молекулярна маса яких становить 2147 Да; 1781 Да; 1308 Да та 827 Да. Рівень пептидів з молекулярною масою 1781 Да та 1308 Да зростав з віком, тоді як вміст сполук з молекулярною масою 2147 Да та 827 Да не змінювався статистично.

Таблиця 3.7

Результати електрофоретичного аналізу білкового складу легень щурів з ГГц.

Молекулярна маса	Статевонезрілі щури		Дорослі щури		Старі щури	
	Контроль	ГГц	Контроль	ГГц	Контроль	ГГц
>150 кДа	-	-	-	-	-	-
150-100 кДа	20,7±1,05	5,0±0,20*	20,3±1,00	14,1±0,65**	25,1±1,25	12,7±0,60***
100-70 кДа	3,8±0,20	0,2±0,01*	16,9±0,75	10,3±0,50**	17,3±0,80	9,1±0,45***
70-50 кДа	17,0±0,85	0,8±0,04*	16,3±0,75	0,2±0,01**	13,4±0,35	0,3±0,01***
50-30 кДа	1,8±0,07	20,6±0,95*	3,2±0,16	10,0±0,55**	7,9±0,45	13,3±0,40***
<30 кДа	56,5±2,50	73,2±3,70*	43,2±2,10	65,1±3,25**	36,1±1,50	64,3±3,00***

Примітки: 1. * – $p < 0,05$ статистично достовірно відносно контролю статевонезрілих щурів; 2. ** – $p < 0,05$ статистично достовірно відносно контролю дорослих щурів; 3. *** – $p < 0,05$ статистично достовірно відносно контролю старих щурів.

Таблиця 3.8

Вміст пептидів у гомогенаті легень щурів з ГГц.

Підрупи щурів		Умови дослідження	Відносний вміст пептидів, ум.од/г тканини
1	Статевонезрілі щури	Контроль	3,22±0,15
		ГГц	5,54±0,21*
2	Дорослі щури	Контроль	4,93±0,21
		ГГц	9,90±0,47**
3	Старі щури	Контроль	5,23±0,25
		ГГц	11,87±0,58***

Примітки: 1. * – $p < 0,05$ статистично достовірно відносно контролю статевонезрілих щурів; 2. ** – $p < 0,05$ статистично достовірно відносно контролю дорослих щурів; 3. *** – $p < 0,05$ статистично достовірно відносно контролю старих щурів.

Таблиця 3.9

Результати хроматографічного аналізу пептидних пулів, одержаних з легень щурів з ГГц.

Молекулярна маса	Статевонезрілі щури		Дорослі щури		Старі щури	
	Контроль	ГГц	Контроль	ГГц	Контроль	ГГц
Площа під піками (ум.од)						
2147 Да	0,088	0,070	0,086	0,089	0,086	0,106
1781 Да	0,033	0,160	0,061	0,064	0,073	0,085
1308 Да	0,051	0,113	0,119	0,127	0,123	0,146
827 Да	0,012	0,018	0,017	0,020	0,019	0,035

Примітки: 1. * – $p < 0,05$ статистично достовірно відносно контролю статевонезрілих щурів; 2. ** – $p < 0,05$ статистично достовірно відносно контролю дорослих щурів; 3. *** – $p < 0,05$ статистично достовірно відносно контролю старих щурів.

Найбільш виражені зміни концентрації пептидів було виявлено у групі статевонезрілих щурів. Рівень пептидів з молекулярною масою 1781 Да, 1308 Да та 827 Да зріс у 4,84 рази, 2,21 рази та 1,5 рази, порівняно з відповідними контролями. Отримані результати можна пояснити, насамперед, активацією канонічних протеолітичних ферментів.

Також було оцінено загальну протеолітичну активність у легенях щурів з ГГц. Отримані результати показали збільшення цього параметра у щурів дослідної групи усіх вікових категорій (див. табл. 3.10). Загальна протеолітична активність зросла в 1,40, 1,47 та 1,44 рази в легенях статевонезрілих, дорослих, старих щурів з ГГц відповідно. Отримані дані узгоджуються з іншими дослідженнями, які показують, що підвищений рівень Гц впливає на протеолітичний потенціал.

Таблиця 3.10

Загальна протеолітична активність у легенях щурів з ГГц.

Статевонезрілі щури		Дорослі щури		Старі щури	
ум.од/г тканини					
Контроль	ГГц	Контроль	ГГц	Контроль	ГГц
9,21±0,04	12,93±0,06*	12,54±0,004	18,44±0,03**	7,46±0,05	10,77±0,04***

Примітки: 1. * – $p < 0,05$ статистично достовірно відносно контролю статевонезрілих щурів; 2. ** – $p < 0,05$ статистично достовірно відносно контролю дорослих щурів; 3. *** – $p < 0,05$ статистично достовірно відносно контролю старих щурів.

Як відомо, ММР беруть участь у диференціюванні та ремоделюванні тканин під час ембріогенезу, в процесингу біологічно активних пептидів та цитокінів у зрілих тканинах. Також доведена їх роль у розвитку різних патологічних станів – ревматологічні, серцево-судинні захворювання, онкопатології, ожиріння [85].

Беззаперечним є факт наявності зв'язку між підвищеним вмістом Гц в організмі та змінами активності MMP. Особливу цікавість викликає підтвердження ремоделювання позаклітинного матриксу у стінках артерій за участі MMP при прогресуванні ГГц [145, 191, 211].

Зміни структурної організації спостерігається і у тканині легень за умов підвищеної активності MMP та зростання в крові вмісту Гц. Відомо, що при ГГц розвивається фіброз легень. При цьому, з одного боку MMP руйнують компоненти сполучної тканини, запобігаючи ремоделюванню і фіброзу, однак надмірна їх експресія призводить до зворотнього ефекту.

Тому наше наступне дослідження було спрямоване на виявлення кількісних змін MMP у тканині легень контрольних та дослідних щурів (див. табл. 3.11).

Проведені дослідження показують, що у тварин з ГГц, згідно з таблицею 3.11, спостерігаються зростання вмісту усіх досліджуваних MMP в незалежності від вікової групи. Це може свідчити про значний зсув балансу протеолітичної компоненти органа в бік підвищення процесів деградації білкових молекул, які не характерні для фізіологічного функціонування організму. Підвищення цих процесів може призводити до появи великої кількості деградованих білкових молекул, пептидів та ферментів зі зміненими властивостями. Ці молекули, в свою чергу, можуть бути тригерами запуску певних біохімічних процесів та механізмів, що призводять до розвитку неконтрольованих патологічних змін, та ускладнюють перебіг ГГц.

Зниження вмісту загального білка в тканині легень статевонезрілих і старих щурів та збільшення вмісту пептидів в тканині легень тварин з ГГц усіх вікових категорій може говорити про значне підвищення протеолітичних процесів в даному органі. Підтвердження цього факту є збільшення MMP в тканині легень статевонезрілих, дорослих, старих щурів дослідної групи.

Таблиця 3.11

Вміст металоматриксних протеїназ у легенях щурів з ГГЦ.

	Статевонезрілі щури		Дорослі щури		Старі щури	
	Контроль	ГГЦ	Контроль	ГГЦ	Контроль	ГГЦ
ММР-1	161,0±11,9	245,2±27,6*	216,9±21,7	280,3±28,3*	193,2±12,6	277,5±15,8*
ММР-2	130,5±9,2	173,8±20,3*	181,9±17,3	223,3±21,0*	156,6±9,9	220,9±11,4*
ММР-3	133,7±16,7	196,2±22,3*	205,6±8,9	257,8±29,3*	160,5±7,8	255,3±19,5*
ММР-8	153,6±20,8	224,3±29,6*	212,3±24,6	314,1±24,3*	184,3±11,3	310,9±23,6*
ММР-10	108,2±26,1	195,6±32,5*	216,7±8,8	259,7±20,8*	129,8±6,8	257,1±17,2*

Примітки: 1. * – $p < 0,05$ статистично достовірно відносно контролю статевонезрілих щурів; 2. ** – $p < 0,05$ статистично достовірно відносно контролю дорослих щурів; 3. *** – $p < 0,05$ статистично достовірно відносно контролю старих щурів.

За умов ГГц в тканині легень підвищується вміст MMP-1, 2, 3, 8 та 10, що підтверджує зсув протеолітичних процесів в бік гіперактивації.

Таким чином, проведені дослідження показують певний дисбаланс у функціонуванні системи протеолізу, який ссувається в бік збільшення кількісних характеристик протеолітичної системи, що в свою чергу призводить не тільки до прогресування протеолітичних процесів та пов'язаних з ними біохімічних механізмів різного генезу, але також провокує появу певного перерозподілу білкового складу тканини легень у бік збільшення низькомолекулярних компонентів. Це може виступати тригером запуску неконтрольованих біохімічних процесів як на рівні тканини, так і потряпляючи в кровоток, мати генералізований характер потенційних пошкоджень організму.

Результати досліджень даного розділу дисертації відображені нами в одній міжнародній статті (Італія) [176] та одних тезах науково-практичної конференції [60].

РОЗДІЛ 4

МОРФОЛОГІЧНИЙ СТАН СТРУКТУРНИХ КОМПОНЕНТІВ ЛЕГЕНЬ ЩУРІВ РІЗНИХ ВІКОВИХ ГРУП ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЇ

4.1. Структурна організація легень статевонезрілих, дорослих та старих щурів контрольної групи

Гістологічно легені утворені повітряноносними шляхами (різними за діаметром бронхами), судинами, нервами, респіраторним відділом який утворюють складові компоненти ацинуса (респіраторними бронхіолами, альвеолярними ходами та мішечками, чисельні альвеоли, які забезпечують газообмін між повітрям та кров'ю. Зовні легені вкриті вісцеральною плеврою, строму органа утворюють тонкі прошарки пухкої сполучної тканини з добре вираженими еластичними і ретикулярними волокнами (рис. 4.1).

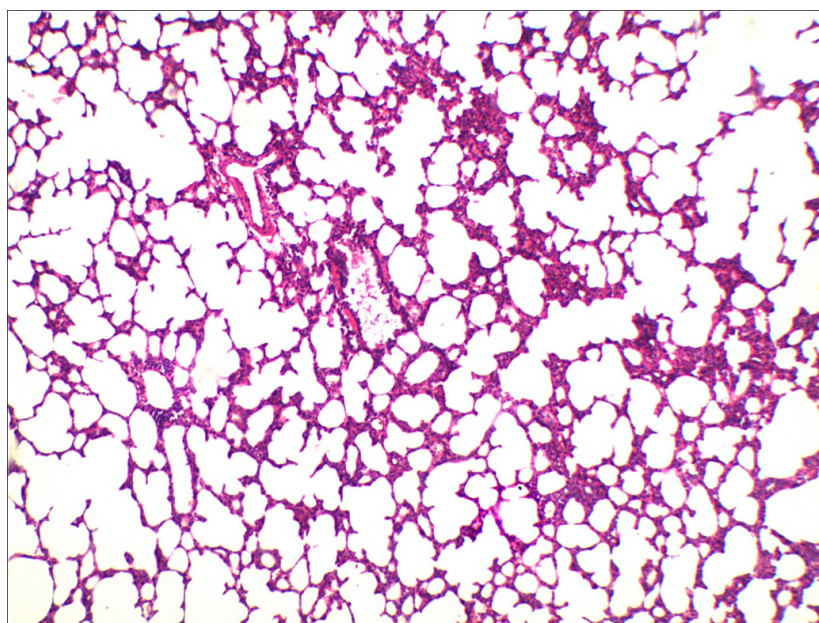


Рис. 4.1. Мікроскопічна організація легені статевонезрілої тварини контрольної групи. Судини, термінальна бронхіола, респіраторний відділ. Збарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 100$.

Бронхіальне дерево легень представлене бронхами різного калібру. Гістологічно стінка бронхів утворена такими оболонками: слизовою, підслизовою основою, фіброзно-хрящовою та адвентиційною. Слизова оболонка представлена трьома пластинками: епітеліальною, власною та м'язовою. Епітелій, який вистилає бронхи зсередини є багаторядний війчастий (псевдобагатошаровий). Власна пластинка слизової оболонки бронхів представлена пухкою волокнистою сполучною тканиною та відмежована від підслизової основи щільним шаром еластичних волокон (еластичною пластинкою) і пучками гладком'язових клітин (м'язовою пластинкою). У власній пластинці присутня велика кількість еластичних та ретикулярних волокон, а також клітини гістіоцитарного та лейкоцитарного ряду. Вперше м'язова пластинка з'являється у бронхах великого калібру у статевонезрілих тварин. Із зменшенням діаметру бронхів розвиток її, навпаки, збільшується (у дорослих тварин).

Пухкою волокнистою сполучною тканиною також утворена підслизова основа бронхів. В ній знаходиться багато слизових та білково-слизових залоз. Із зменшенням калібру бронхів кількість залоз зменшується, а у малих бронхах вони зникають.

Характерною особливістю вікової інволюції легень старих тварин є зміна реологічних властивостей слизу та поступової атрофії секреторних відділів слизових залоз бронхів, що призводить до нагромадження та застою слизу в просвіті бронхів та відповідно до слизової обструкції (рис. 4.2). Стінка бронхів стоншується, відбувається поступова атрофія оболонок, епітелій десквамується в просвіт.

Фіброзно-хрящова оболонка стінки бронхів утворена гіаліновою хрящовою тканиною, що представлена острівцями у великих бронхах. Проте в середніх та малих бронхах гіалінова хрящова тканина зникає. Проміжки між хрящами заповнені секреторними відділами білково – слизових залоз та пучками гладком'язових клітин. Адвентиційна оболонка, яка оточує бронхи ззовні, сформована пухкою сполучною тканиною, що з'єднується з сполучною тканиною строми.

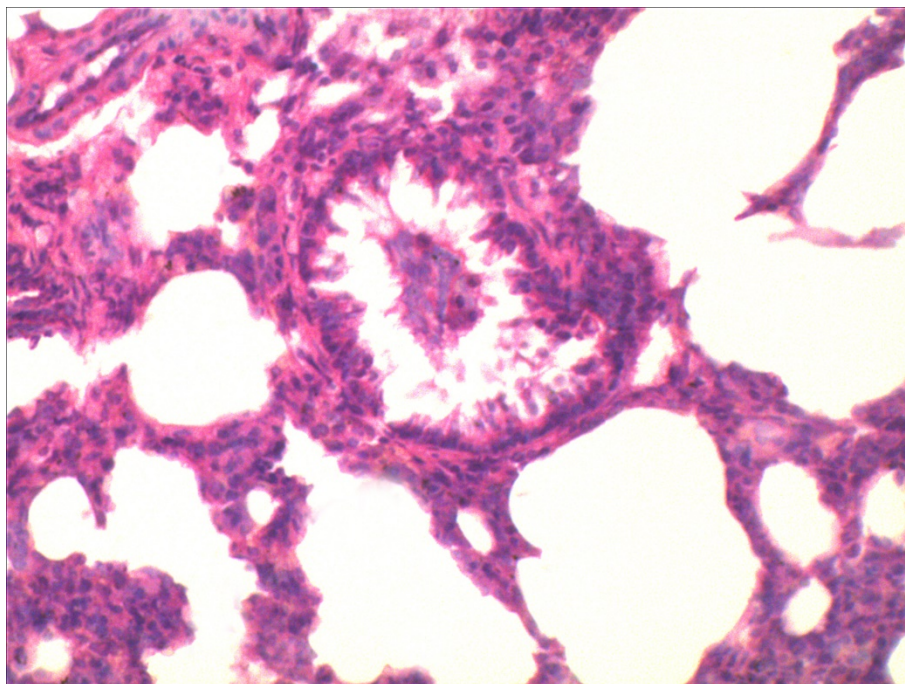


Рис. 4.2. Структурна організація бронха легені старої тварини контрольної групи. Стоншення і атрофія стінки, слизово-клітинний детрит в просвіті. Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 200$.

У бронховаскулярній стромі, яка представлена сполучною тканиною, а також в стінці бронхів та адвентиції судин є скупчення бронхо – асоційованої лімфоїдної тканини (BALT), дифузне, осередкове або фолікулярне нагромадження лейкоцитів, що забезпечує імунний захист.

Гістологічні дослідження структурної організації стінки легеневої артерії дорослих щурів показали, що вона утворена трьома оболонками: внутрішньою (інтима), середньою (медіа) і зовнішньою (адвентиція). Інтима утворена ендотелієм, що який утворений плоскими клітинами полігональної форми з нерівними краями, тонкого підендотеліального шару, який побудований із пухкої волокнистої сполучної тканини та внутрішньої еластичної мембрани. Медіа побудована із еластичних вікончастих мембран, які між собою пов'язані еластичними волокнами, що утворюють єдиний еластичний каркас судини. Також медіа містить косорозташовані гладкі міоцити, а також нечисельні фібробласти. Адвентиція утворена із пухкої сполучної тканини в якій міститься

чисельні еластичні та колагенові волокна, що мають поздовжній напрям, судини судин та нерви судин.

Стінка артерії середнього діаметру, яка відноситься до судин мішаного типу, побудована також із трьох оболонок: внутрішньої, середньої і зовнішньої. Внутрішня оболонка (інтіма) включає в себе ендотелій, який розташований на базальній мембрані, підендотеліальний шар і внутрішню еластичну мембрану. Медія побудована з гладких міоцитів і еластичних волокон, між ними виявляються поодинокі фібробласти та волокна. Адвентиція побудована із пучків еластичних та колагенових волокон.

У статевонезрілих та дорослих дослідних щурів в стінці великого та середнього діаметру артерій відбувається розвиток, розростання еластичних волокон, а у старих – їх відносна атрофія та заміщення ретикулярними або колагеновими волокнами (рис. 4.3).

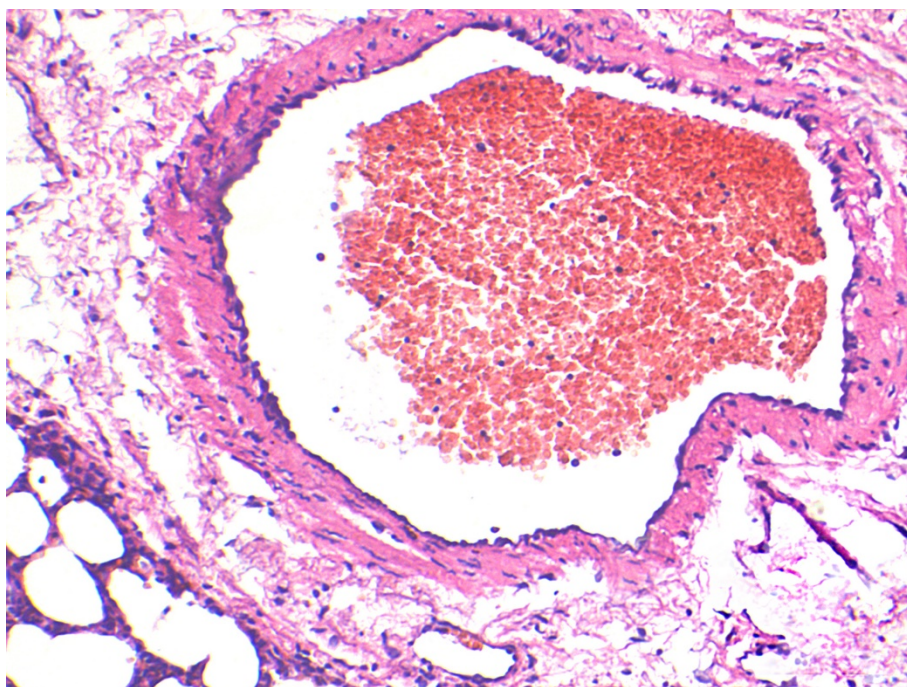


Рис. 4.3. Структурна організація артерії легені старих тварин контрольної групи. Помірно кровонаповнений та деформований просвіт артерії, дистонія стінки, реорганізація адвентиції. Забарвлення гематоксилином і еозином. $\times 100$.

Також в ній знаходяться судини судин і нерви судин. Середня оболонка артерії м'язового типу сформована з великої кількості гладких міоцитів. Внутрішня оболонка (інтима) та зовнішня оболонка (адвентиція) побудовані аналогічно до вищеописаних.

Вени малого діаметру і венули містяться переважно по периферії часточки. Середня оболонка в стінках венозного русла органу побудована з гладких міоцитів та утворює суцільний м'язовий шар, який починається в дрібних венах, та збільшується із збільшенням діаметру судин. У стінці вен великого діаметру порівняно з дрібними та середніми виявляється більше ретикулярних та колагенових волокон. В порівнянні з легeneвими артеріями стінка легeneвих вен тонша і містить меншу кількість гладких міоцитів (рис. 4.4). Клапани у легeneвих венах відсутні.

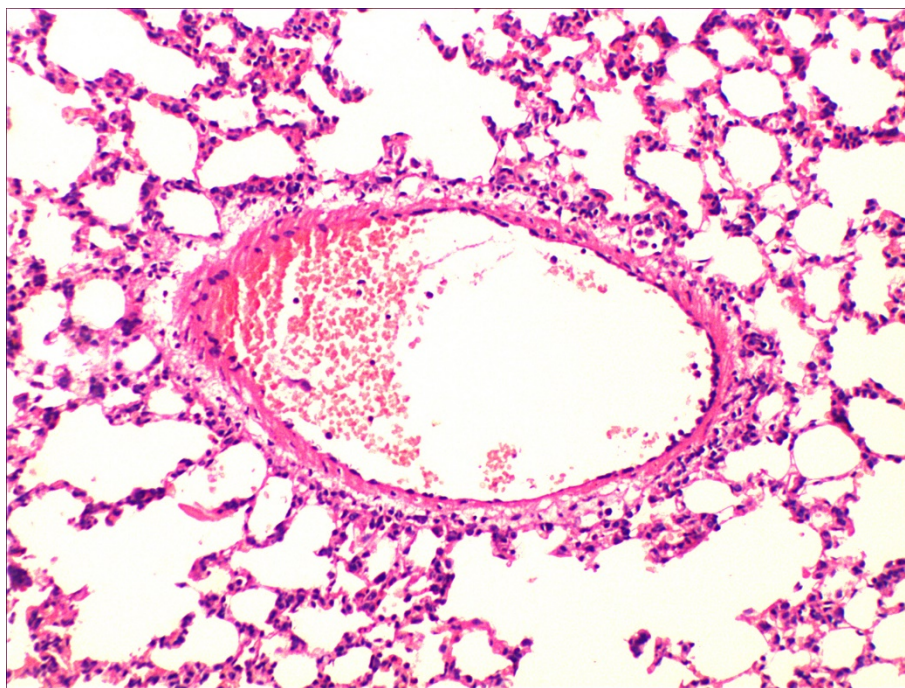


Рис. 4.4. Структурна організація вени легені дорослих тварин контрольної групи. Відносно тонка стінка, кровонаповнений просвіт. Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 100$.

Респіраторний відділ легень включає респіраторні бронхіоли, альвеолярні ходи, альвеолярні мішечки і чисельні альвеоли. Ацинуси мікроскопічно

формують респіраторний відділ легень. Ацинус містить респіраторні бронхіоли, що відгалужуються від термінальної бронхіоли. Респіраторні бронхіоли переходять в альвеолярні ходи, які закінчуються альвеолярними мішечками. Мішечки містять велику кількість альвеол, де й відбувається газообмін між повітрям і кров'ю.

Стінка респіраторної бронхіоли побудована з двох оболонок: слизової та адвентиційної оболонок. Слизова утворена одношаровим кубічним епітелієм, тонкою власною пластинкою в якій знаходяться еластичні волокна та нечисельні гладкі міоцити. Адвентиційна оболонка утворена з пухкої сполучної тканини, що з'єднується з інтерстиційною сполучною тканиною. В стінці альвеолярних бронхіол наявні альвеоли, що є диференційною ознакою вказаних бронхіол. Між альвеолами знаходиться міжальвеолярна перегородка, утворена пухкою сполучною тканиною, яка містить ретикулярні та еластичні волокна та клітинні елементи.

У респіраторному відділі легень статевонезрілих щурів частина міжальвеолярних перегородок потовщені, що зменшує їх властивість розтягуватися (рис. 4.5). Також інтенсивно розвинені судини гемомікроциркуляторного відділу, особливо гемокапілярів в стінці альвеол для інтенсивного перебігу обмінних процесів.

Віковою особливістю легень старих тварин є часткова редукція альвеол та міжальвеолярних перегородок, з формуванням емфізематозно розширених альвеол (рис. 4.6).

В стромальній сполучній тканині та стінці артерій старих щурів зменшується кількість еластичних волокон, що супроводжується потовщенням та ущільненням міжальвеолярних перегородок, втратою пружності та еластичності стінок судин.

Отже, проведені гістологічні дослідження легень тварин різних вікових груп встановили загальні закономірності їх структурної організації та окремі специфічні, що проявляються в поступовому розвитку, нормальній гістоструктурі або регресії бронхів, судин, стромы та компонентів респіраторного відділу легень.

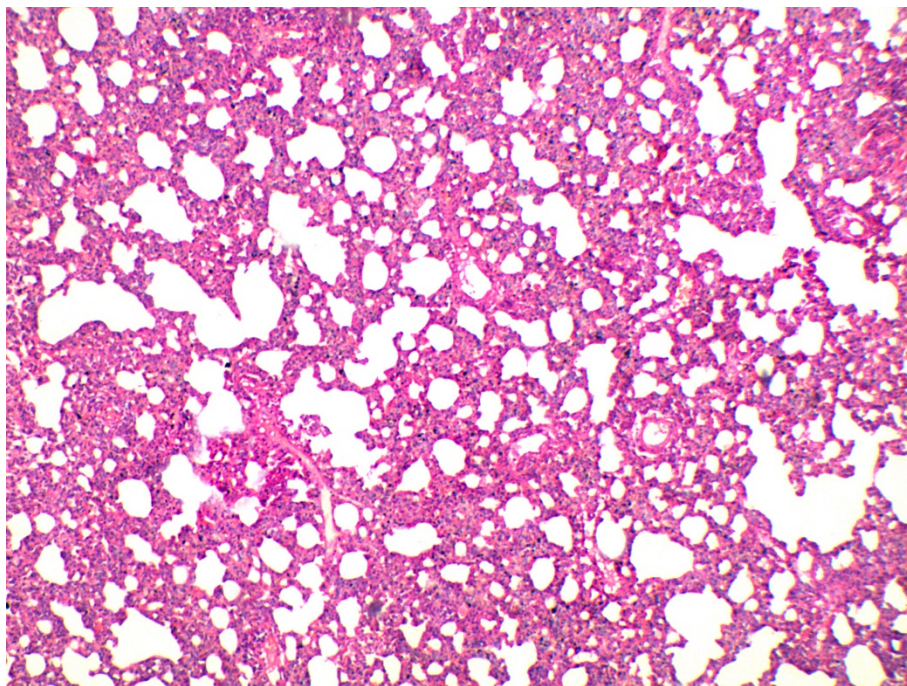


Рис. 4.5. Респіраторний відділ легені статевонезрілого щура контрольної групи. Структурна організація легеневого ацинуса. Термінальна бронхіола, артерія, респіраторний відділ з незміненою гістоструктурою та з відносно потовщеними альвеолярними перегородками. Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 100$.

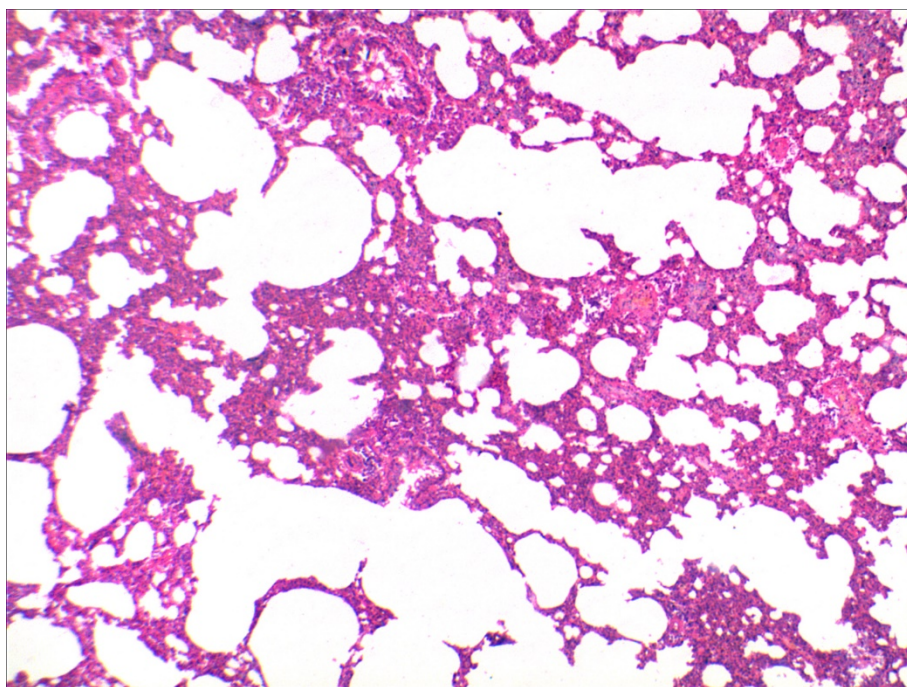


Рис. 4.6. Респіраторний відділ легені старої тварини контрольної групи. Емфізематозно розширені альвеоли, малий бронх, потовщені, ущільнені міжальвеолярні перегородки. Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 100$.

4.2. Особливості гістологічних змін легень статевонезрілих тварин за умов гіпергомоцистеїнемії

Проведені гістологічні дослідження легень експериментальних статевонезрілих тварин за умов ГГц встановили порушення легеневої гемодинаміки, набрякові явища структурних компонентів респіраторного відділу, стінок судин та бронхів.

Для великих, середніх та, особливо малих бронхів і бронхіол, характерний набряк, потовщення стінки, її деформація. Деструкція фіброзно-хрящової оболонки та м'язової пластинки призводили до зменшення складок слизової оболонки. В просвітах бронхів виявлявся серозно-слизовий вміст із десквамованими епітеліоцитами. Адвентиційна оболонка інфільтрована лейкоцитами, макрофагами (рис. 4.7).

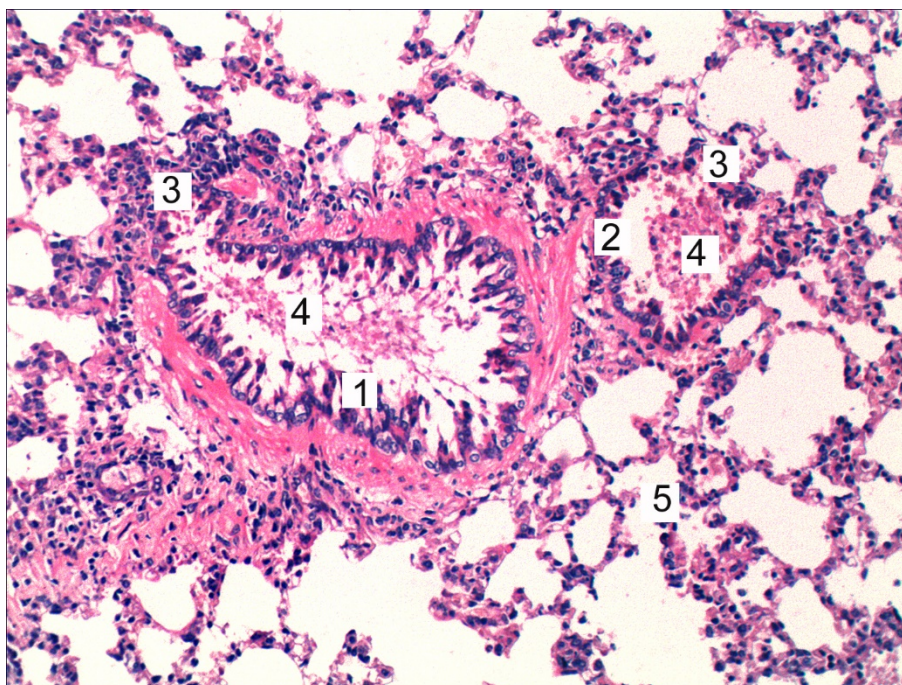


Рис. 4.7. Мікроскопічні зміни легені статевонезрілої тварини за умов гіпергомоцистеїнемії. Бронх великого (1) та середнього діаметру (2), деформація стінки (3), серозно-слизовий вміст у просвіті (4), респіраторний відділ (5). Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 100$.

Реорганізація стінок судин великого та середнього діаметрів проявлялася розширенням їх просвітів та кровонаповненням, набряком і лейкоцитарною інфільтрацією, переважно адвентиції. Також виявлялися кровоносні судини із звуженими просвітами (рис. 4.8, рис. 4.9).

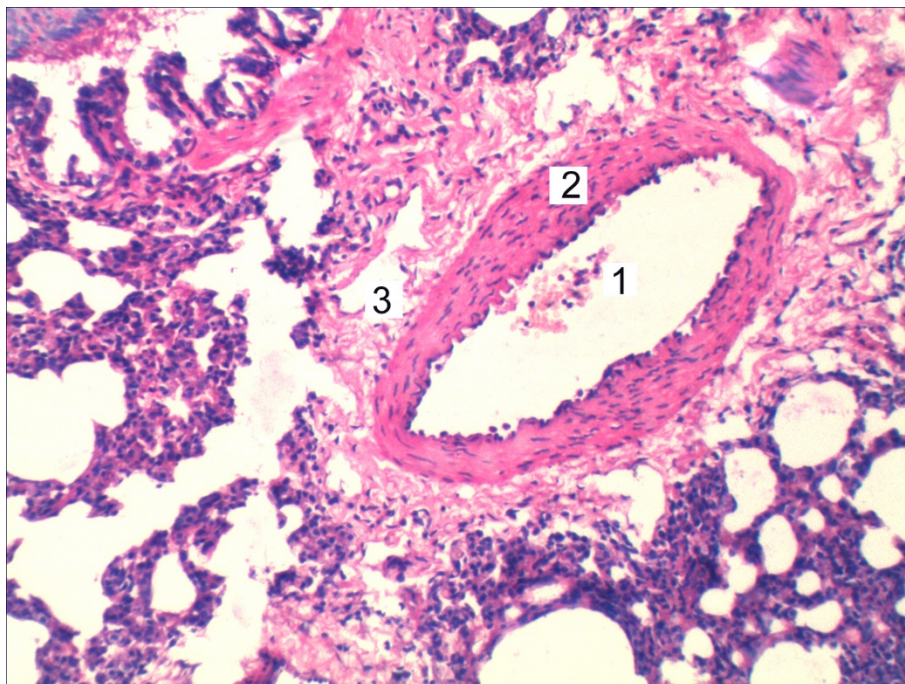


Рис. 4.8. Гістологічні зміни легені статевонезрілої тварини за умов гіпергомоцистеїнемії. Просвіт артерії великого діаметру (1), набряк, деструкція медії (2) та адвентиції (3). Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 100$.

Мікроскопічні зміни в судинах мікроциркуляторного русла на напівтонких зрізах характеризувалися гетероморфністю. Визначалися кровонаповненні венули, із стазами, складжуванням еритроцитів, скупченням тромбоцитів, нейтрофілів в просвітах та крайовим стоянням лейкоцитів біля ендотелію. В набряклих ендотеліоцитах виявляли вакуолі, вип'ячування ядер в просвіт судини. Базальна мембрана була також набрякла, нечітко виражена (рис. 4.10). Також наявні мікросудини із потовщеною стінкою, спазмованим вузьким просвітом. Дистонія стінки судин проявлялась витонченням, нерівномірним потовщенням, вузьким або спавшим просвітом.

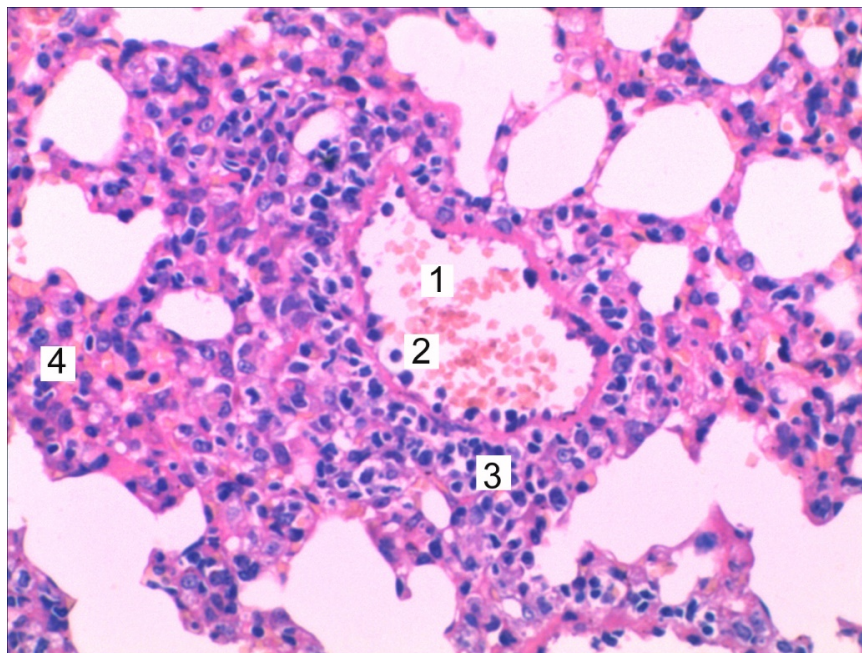


Рис. 4.9. Мікроскопічні зміни легені статевонезрілої тварини за умов гіпергомоцистеїнемії. Просвіт вени малого діаметру (1), крайове стояння лімфоцитів біля ендотелію (2), нагромадження лейкоцитів в адвентиції (3), набряк та інфільтрація респіраторного відділу (4). Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 200$.

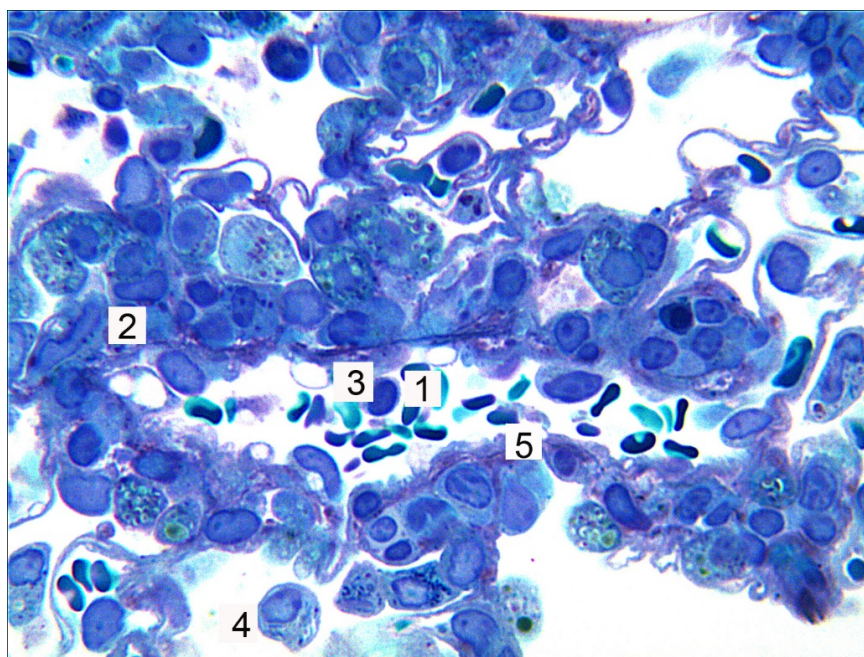


Рис. 4.10. Мікроскопічні зміни легені статевонезрілої тварини за умов гіпергомоцистеїнемії. Просвіт венули із форменими елементами крові (1), гістолейкоцитарна інфільтрація стінки (2), деструктивно змінені ендотеліоцити (3), альвеолярні макрофаги в просвіті альвеол (4), базальна мембрана (5). Напівтонкий зріз. Забарвлення метиленовим синім. $\times 400$.

Прояви запального характеру визначалися у міграції лейкоцитів (переважно лімфоцитів) у міжальвеолярні перетинки з утворенням вогнищ запалення.

У респіраторному відділі легень міжальвеолярні перегородки були потовщеними внаслідок кровонаповнення гемокапілярів та набряку, зумовленого підвищенням проникності стінок мікросудин для плазми крові. Також наявна гістоцитарна інфільтрація паренхіми органу. У просвітах альвеол спостерігали зростання кількості альвеолярних макрофагів.

Серед незміненої гістоструктури тканини легень визначалися також невеликі ділянки дис- та ателектазів, із частково або повністю відсутніми просвітами альвеол (рис. 4.11). У периферійних, субплевральних ділянках спостерігали емфізематозно змінену тканину легень із витонченими міжальвеолярними перетинками та значно розширеними просвітами альвеол. Стоншені ділянки аерогематичного бар'єру руйнувалися або розривалися, що призводило до виходу формених елементів і плазми крові у просвіти альвеол (рис. 4.12).

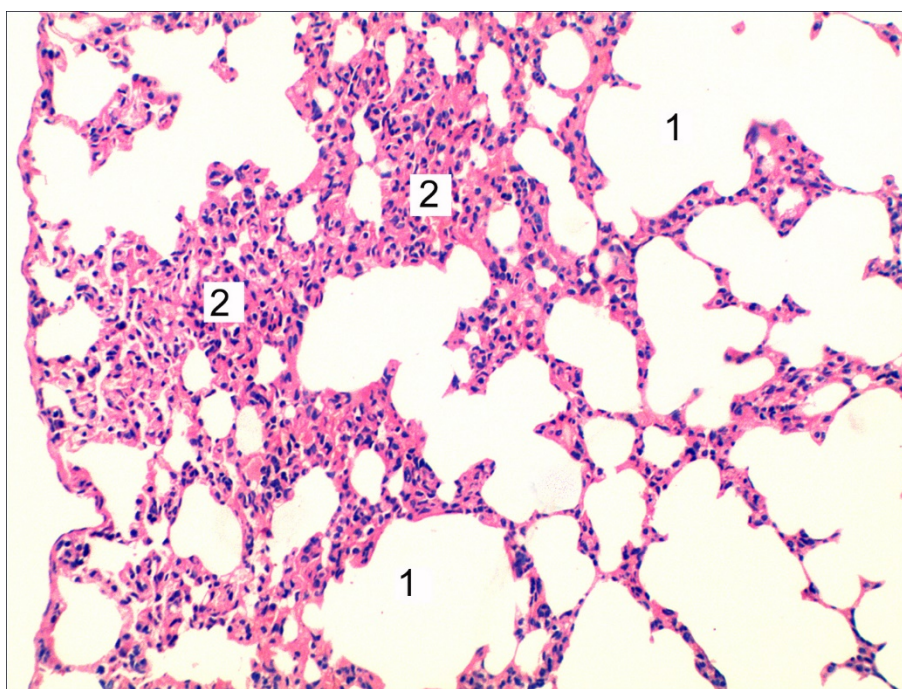


Рис. 4.11. Мікроскопічні зміни респіраторного відділу легені статевонезрілої тварини за умов гіпергомоцистеїнемії. Альвеолярні мішечки (1), ділянки ателектазів та гістолейкоцитарної інфільтрації (2). Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 100$.

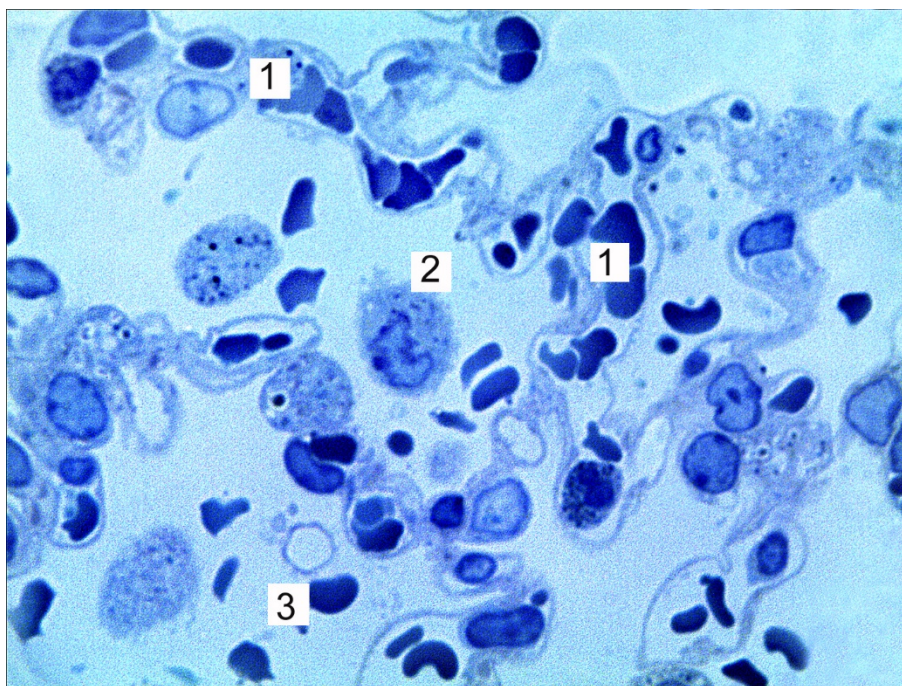


Рис. 4.12. Мікроскопічні зміни респіраторного відділу легені статевонезрілої тварини за умов гіпергомоцистеїнемії. Кровонаповнені гемокапіляри (1), альвеолярні макрофаги (2), еритроцити в просвіті альвеол (3). Напівтонкий зріз. Забарвлення метиленовим синім. $\times 400$.

4.3. Гістологічні зміни легень дорослих тварин за умов гіпергомоцистеїнемії

Проведені мікроскопічні дослідження легень дорослих щурів за умов змодельованої ГГц виявили дисциркуляторні розлади, ремоделювання стінок бронхів із формуванням у них запальних інфільтратів. Для артерій переважно великого діаметру характерні деструктивні зміни, які проявляються нерівномірним потовщенням або витонченням медії, порушенням структурної організації інтими із ознаками набряку та десквамації ендотелію в просвіт судини. Внутрішня еластична мембрана нечітко контурована, деформована, на деяких ділянках гомогенна. Просвіт неправильний, кровонаповнений (рис. 4.13). В адвентиційній оболонці наявне розростання колагенових та ретикулярних волокон і об'ємні скупчення лейкоцитарних інфільтратів.

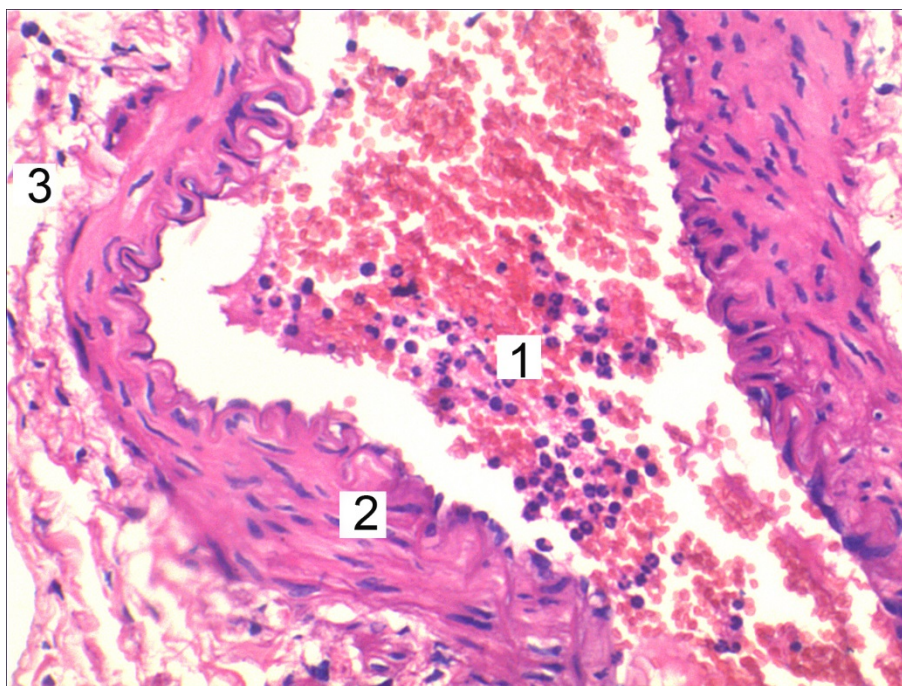


Рис. 4.13. Гістологічні зміни легені дорослої тварини за умов гіпергомоцистеїнемії. Кровонаповнений просвіт артерії великого діаметру (1), деформація медії (2) та адвентиції (3). Забарвлення гематоксилином і еозином. $\times 200$.

Для дрібних артерій характерна надмірна гіпертрофія медії та, відповідно, звуження просвіту, як прояв компенсаторних механізмів порушеного кровообігу при гіпергомоцистеїнемії. Вени мали переважно дистонічно змінену, витончену стінку, кровонаповнений просвіт, в якому виявляються нейтрофіли, тромбоцити, еритроцити. Адвентиція її мала ознаки вираженої інфільтрації. Відмічалось крайове стояння лімфоцитів біля ендотелію (рис. 4.14, рис. 4.15).

В судинах малого діаметру та гемомікроциркуляторного русла наявні тромби, сладж-ефект еритроцитів, їх стінка нечітка, розмита. Характерною є периваскулярна інфільтрація.

Вивчення реорганізації бронхів показали, що більшість їх просвітів звужені, спазмовані, часто заповнені серозно-слизовим вмістом із десквамованим респіраторним епітелієм. Спостерігається набряк, дезорганізація волокон і основної речовини стінки, інфільтрація макрофагами, лімфоцитами, нейтрофілами (рис. 4.16).

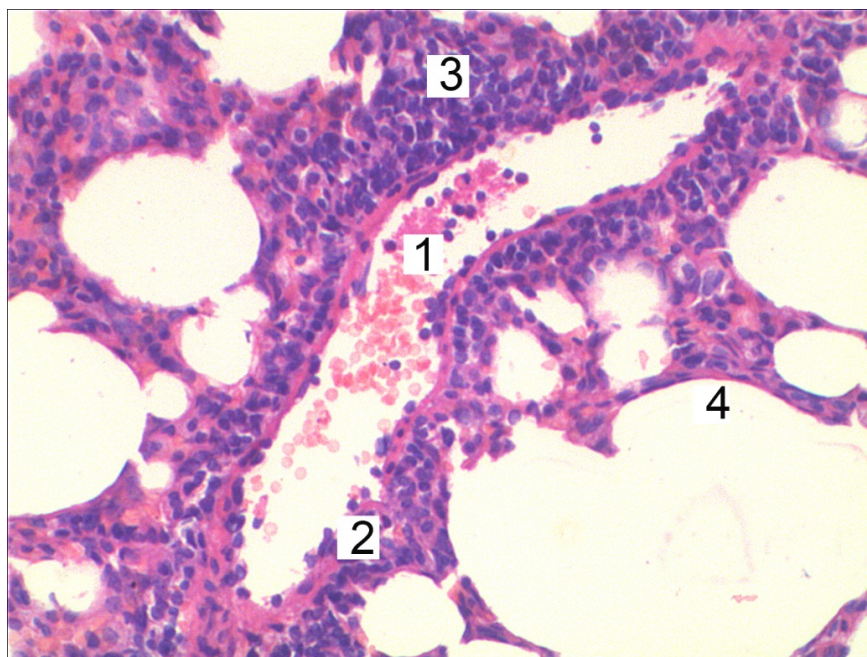


Рис. 4.14. Гістологічні зміни легені дорослої тварини за умов гіпергомоцистеїнемії. Просвіт вени середнього діаметру (1) з форменими елементами крові, деструктивно змінена стінка (2). Периваскулярна інфільтрація лімфоцитами (3), респіраторний відділ (4). Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 200$.

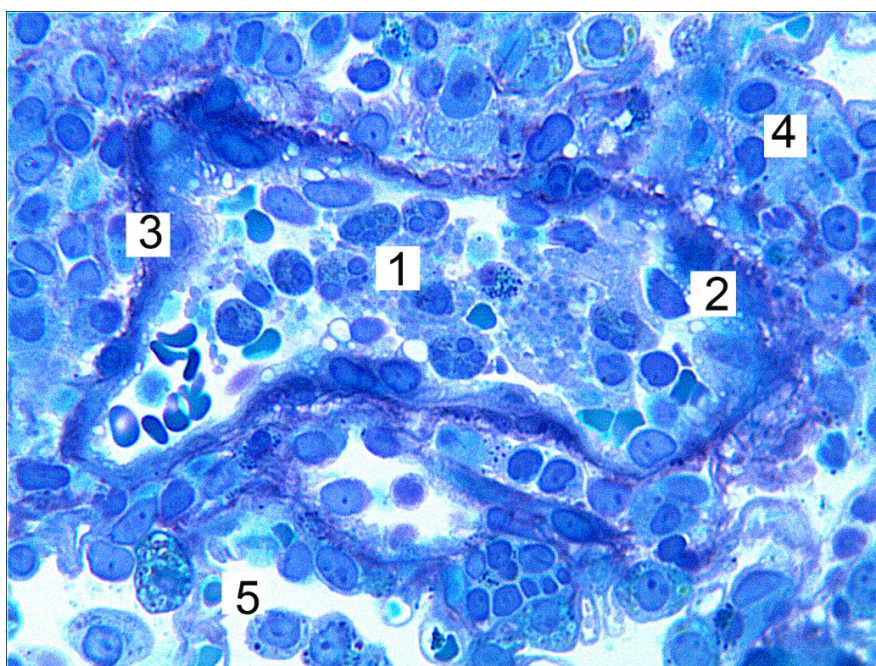


Рис. 4.15. Мікроскопічні зміни легені дорослої тварини за умов гіпергомоцистеїнемії. Кровонаповнений просвіт вени малого діаметру (1), набряк і деструкція ендотеліоцитів (2), волокнисті структури медії (3) інфільтрація адвентиції (4), респіраторний відділ (5). Напівтонкий зріз. Забарвлення метиленовим синім. $\times 400$.

новної речовини стінки, інфільтрація макрофагами, лімфоцитами, нейтрофілами (рис. 4.16).



Рис. 4.16. Мікроскопічні зміни легені дорослої тварини за умов гіпергомоцистеїнемії. Деструкція стінки бронха середнього діаметру (1), десквамовані респіраторні епітеліоцити у просвіті (2), інфільтрована лейкоцитами адвентиція (3), респіраторний відділ (4). Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 200$.

У респіраторному відділі виявляються досить об'ємні зони диста- та ателектазів. Переважно в периферійних, субплевральних ділянках, рідше в центральних зонах часток наявні емфізематозно змінені ділянки, зростає інфільтрація стінок альвеол лейкоцитами, макрофагами, молодими та зрілими активними фібробластами. Визначається розростання волокнистих структур у стінках альвеол та, відповідно, їх потовщення. В просвітах альвеол наявне збільшення числа альвеолярних макрофагів, еритроцити внаслідок стоншення та розриву стінки альвеоли (рис. 4.17, рис. 4.18). Вогнищево в перенхімі органу є дрібні інтерстиційні крововиливи.

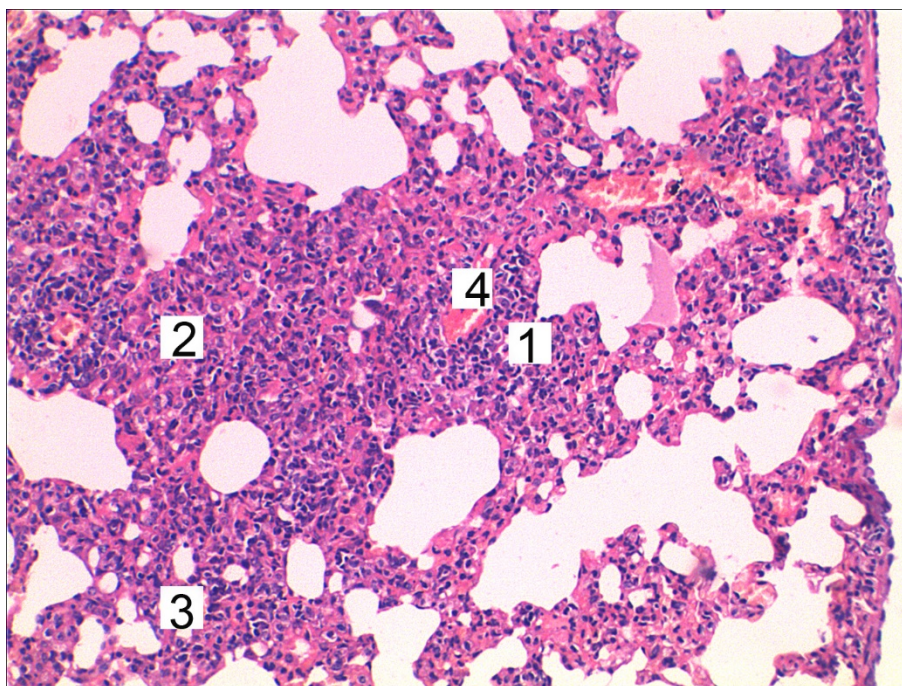


Рис. 4.17. Мікроскопічні зміни респіраторного відділу легені дорослої тварини за умов гепергомоцистеїнемії. Зони лейкоцитарної інфільтрації (1) та клітинної проліферації (2), ділянки дис- ателектазів (3), кровонаповнені вени (4). Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 100$.

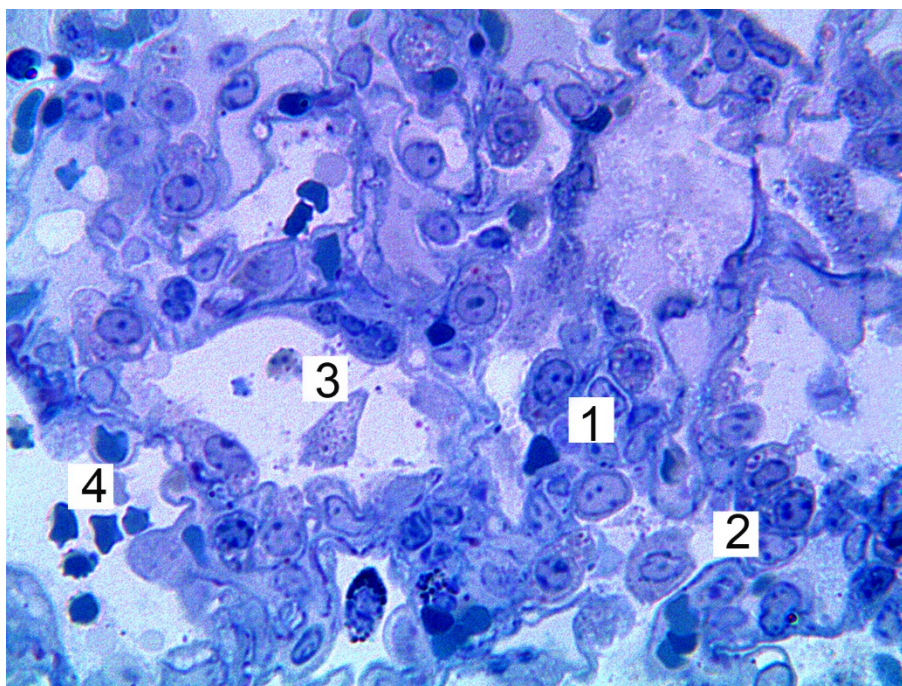


Рис. 4.18. Мікроскопічні зміни респіраторного відділу легені дорослої тварини за умов гіпергомоцистеїнемії. Ділянки інфільтрації стінки альвеоли (1), зони дис- ателектазів (2), альвеолярні макрофаги (3) та еритроцити в просвіті альвеол (4). Напівтонкий зріз. Забарвлення метиленовим синім. $\times 400$.

4.4. Гістологічні зміни легень тварин старого віку за умов гіпергомоцистеїнемії

Проведені мікроскопічні дослідження легень експериментальних тварин старого віку на тлі ГГц встановили значні запальні, деструктивні зміни та характерні склеротичні зміни судин, бронхів, респіраторного відділу. Характерним є ремоделюванням усіх оболонок стінки бронхів. Виразних альтеративних змін зазнає слизова оболонка, в епітеліальній пластинці клітини мали нечіткі мембрани плазмолем, дистрофічно змінену, просвітлену цитоплазму, гіперхромні, пікнотичні ядра. Визначалася десквамація епітеліоцитів в просвіт бронхів. Останні були деформовані, як за рахунок атрофії або гіпертрофії м'язової пластинки, особливо дрібних бронхів та бронхіол, так і внаслідок запальних, склеротичних змін. В їх просвітах виявляли об'ємні скупчення слизово-клітинного детриту (рис. 4.19).

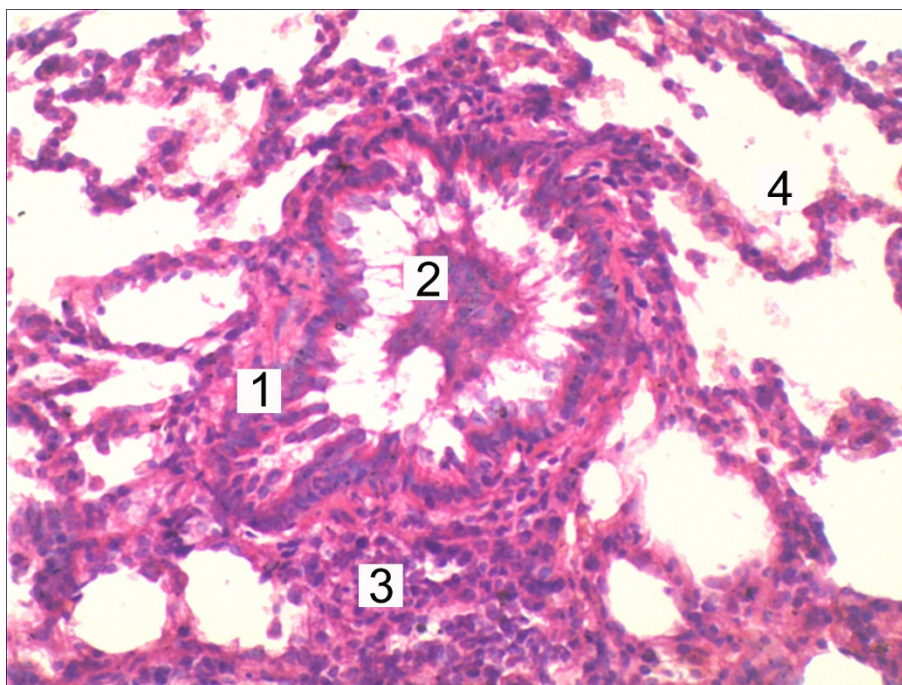


Рис. 4.19. Мікроскопічні зміни легені тварини старого віку за умов гіпергомоцистеїнемії. Деформована стінка бронха (1), слизово-клітинний детрит в просвіті (2), лейкоцитарна інфільтрація адвентиції (3), респіраторний відділ (4). Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 200$.

При імпрегнації солями срібла виявляється збільшення вмісту волокнистих компонентів в стінці бронхів, особливо адвентиційної оболонки, які володіють інтенсивною аргірофілією, що призводить до перибронхіального склерозу (рис. 4.20).

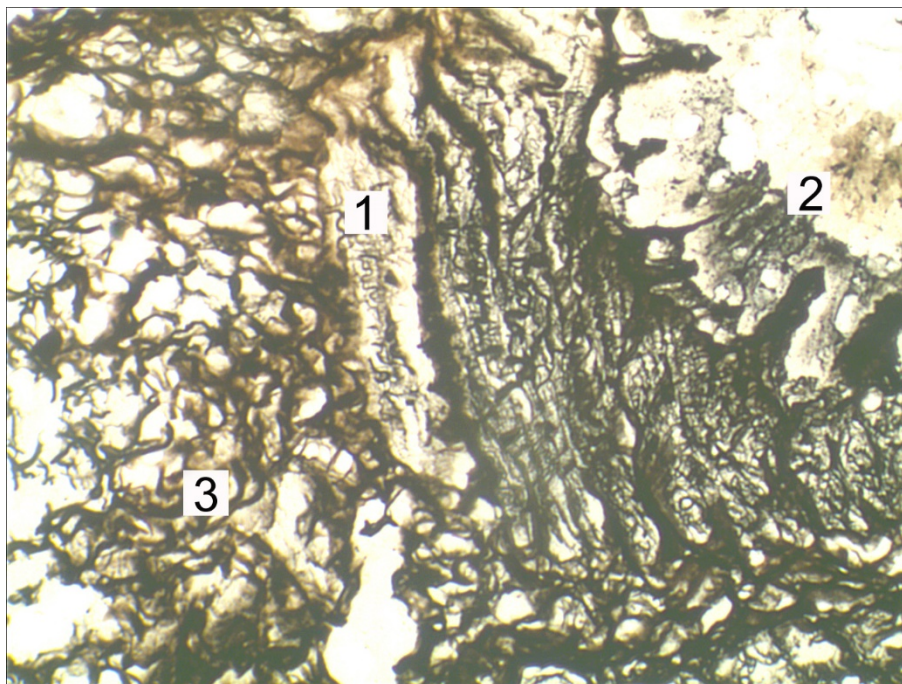


Рис. 4.20. Мікроскопічний стан легені щура старого віку при імпрегнації нітратом срібла за умов гіпергомоцистеїнемії. Дезорганізація ретикулярних волокон стінки бронха (1), просвіт із слизовим вмістом (2), аргірофільні колагенові волокна адвентиції (3). Метод Гордона-Світса. $\times 200$.

Гістологічно в цей термін експерименту встановлено, що для судин характерне помірне кровонаповнення, однак часто виявлялися в просвітах сформовані тромби. Стінка деструктивно змінена, деформована. В ендотелії інтими наявна деформація, гомогенізація внутрішньої еластичної мембрани, пікноз ядер ендотеліоцитів та десквамація в просвіт судини ендотеліальних клітин з оголенням базальної мембрани. Гладкі міоцити медії набрякли, гомогенізовані, дистрофічно змінені, містять гіперхромні ядра. Виявляються в органі дрібні судини, так звані артерії «замикального» типу, в яких медія потовщена за рахунок гіперплазії гладком'язових клітин, просвіт яких вузький, щілиноподібний (рис. 4.21). Прояви запального

характеру судинної стінки визначалися лейкоцитарною інфільтрацією всієї товщі, в найбільшій мірі адвентиції (рис. 4.22).

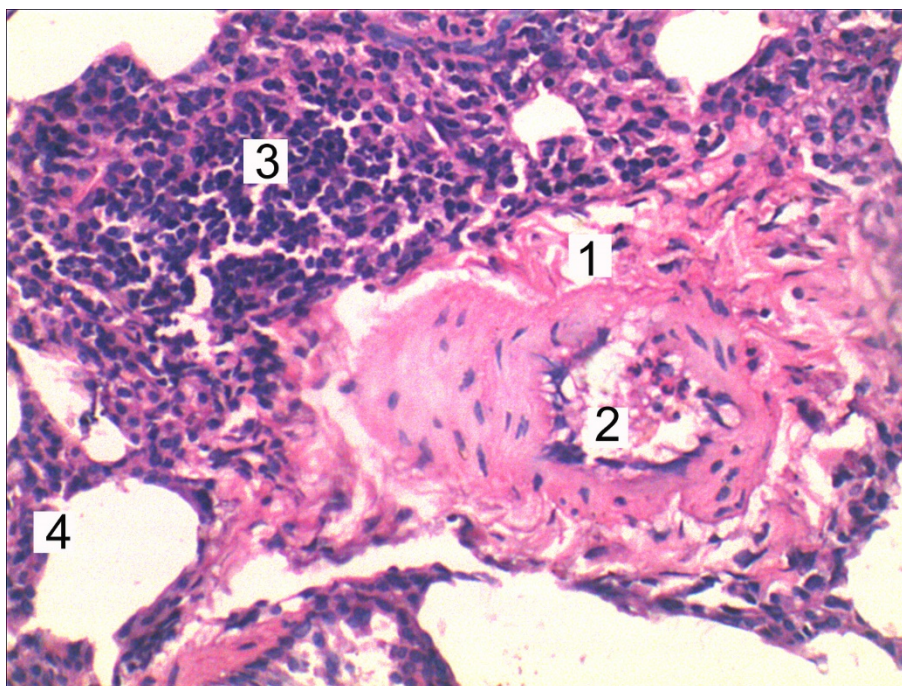


Рис. 4.21. Гістологічні зміни легені тварини старого віку за умов гіпергомоцистеїнемії. Дистрофічно змінена стінка артерії (1), просвіт (2), лейкоцитарний інфільтрат (3), респіраторний відділ (4). Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 200$.

Також в цей термін досліджу спостерігали виразні прояви склерозу стінки, в найбільшій мірі адвентиції, що характеризується активною проліферацією фібробластів та розростанням ретикулярних і, в більшій мірі, колагенових волокон, які володіють яскравою аргірофілією (рис. 4.23).

Судини гемомікроциркуляторного русла також були значно змінені, проявлялися гетерогенністю. Для венул характерними були застійні явища, стази, складжі еритроцитів, тромбоутворення. Ендотеліоцити дистрофічно змінені, містять пікнотичні ядра, що виступають в просвіт судини. Артеріоли мали потовщену, деструктивну стінку та звужений, спазмований просвіт. Виявлялася значна периваскулярна лейкоцитарна інфільтрація. Для гемокапілярів також характерне кровонаповнення, стази і складжі, базальна мембрана гомогенна, набрякла, нечітко контурована, дистрофічно змінений ендотелій.

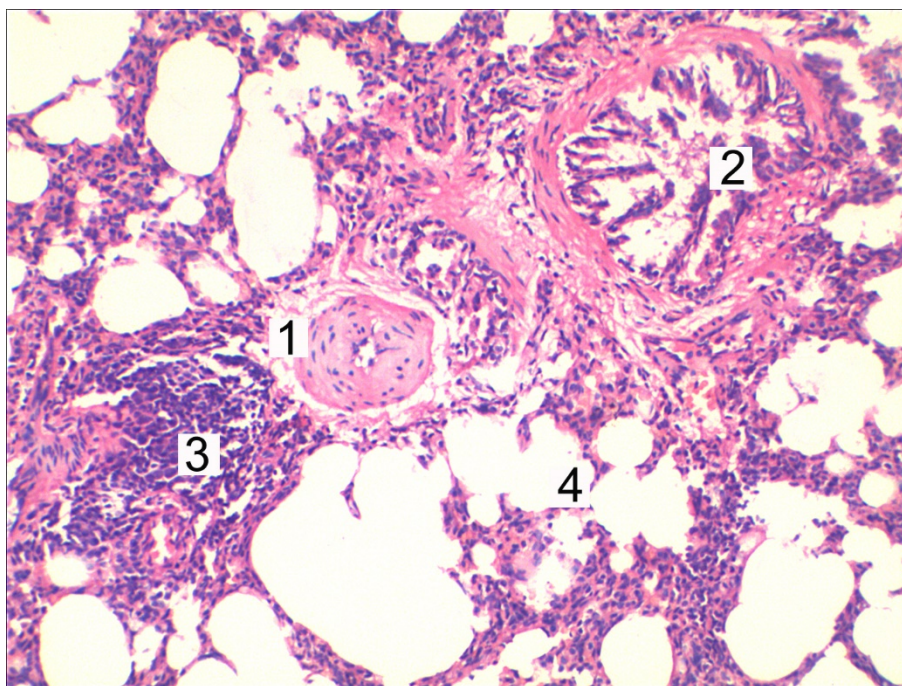


Рис. 4.22. Гістологічні зміни легені тварини старого віку за умов гіпергомоцистеїнемії. Артерія малого калібру «замикального типу» з гіпертрофією медії (1) деформований, деструктивно змінений бронх (2), лейкоцитарний інфільтрат (3), респіраторний відділ (4). Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 100$.



Рис. 4.23. Мікроскопічний стан легені щура старого віку при імпрегнації нітратом срібла за умов гіпергомоцистеїнемії. Деформація і деструкція стінки артерії (1), просвіт судини (2), аргірофільні колагенові волокна адвентиції (3), респіраторний відділ (4). Метод Гордона-Світса. $\times 200$.

Реорганізація судин та бронхів супроводжується змінами паренхіми органу. Тканина легень неоднорідна, переважають зони дис- та ателектазів, в яких виявляється розростання колагенових волокон, які чітко виявляють при імпрегнації солями срібла, що призводить до поширеного мозаїчного фіброзу респіраторного відділу (рис. 4.24). Переважно в субплевральних ділянках наявні емфізематозно розширені альвеоли. Зони незміненої гістоструктури тканини легень відносно невеликі. Визначаються ділянки пошкодження міжальвеолярних перетинок, з виходом формених елементів крові в просвіт альвеол. Спостерігаються невеликі інтерстиційні та вогнищеві крововиливи.

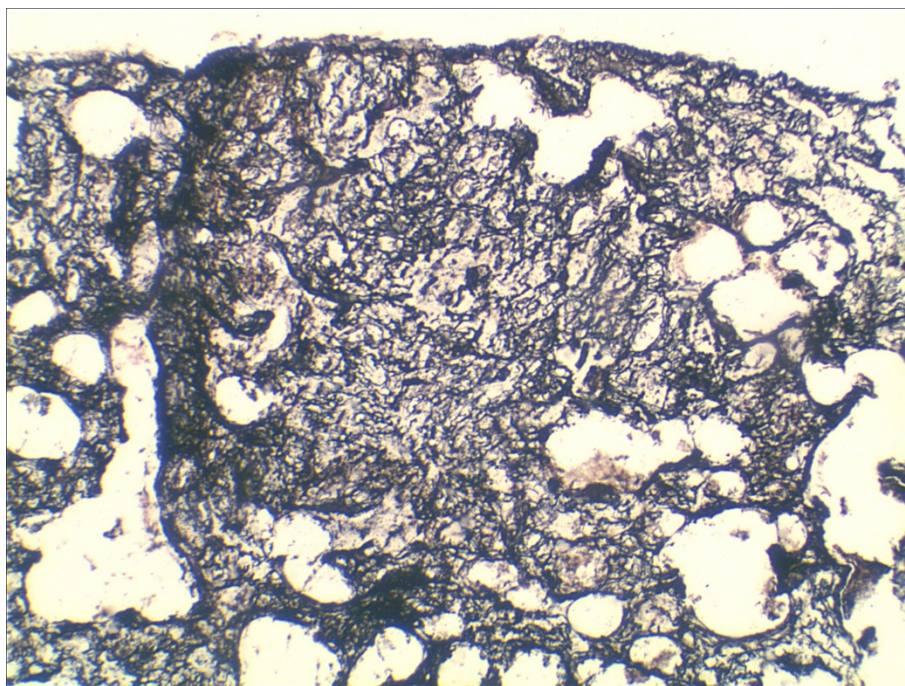


Рис. 4.24. Мікроскопічний стан легень щурів старого віку при імпрегнації нітратом срібла за умов гіпергомоцистеїнемії. Розростання в респіраторному відділі дрібних аргірофільних ретикулярних і колагенових волокон. Метод Гордона-Світса. $\times 100$.

Практично у всіх полях зору в компонентах респіраторного відділу легень наявна гістолейкоцитарна інфільтрація (рис. 4.25, рис. 4.26). В просвітах альвеол є чисельні молоді і активно фагоцитуючі макрофаги.

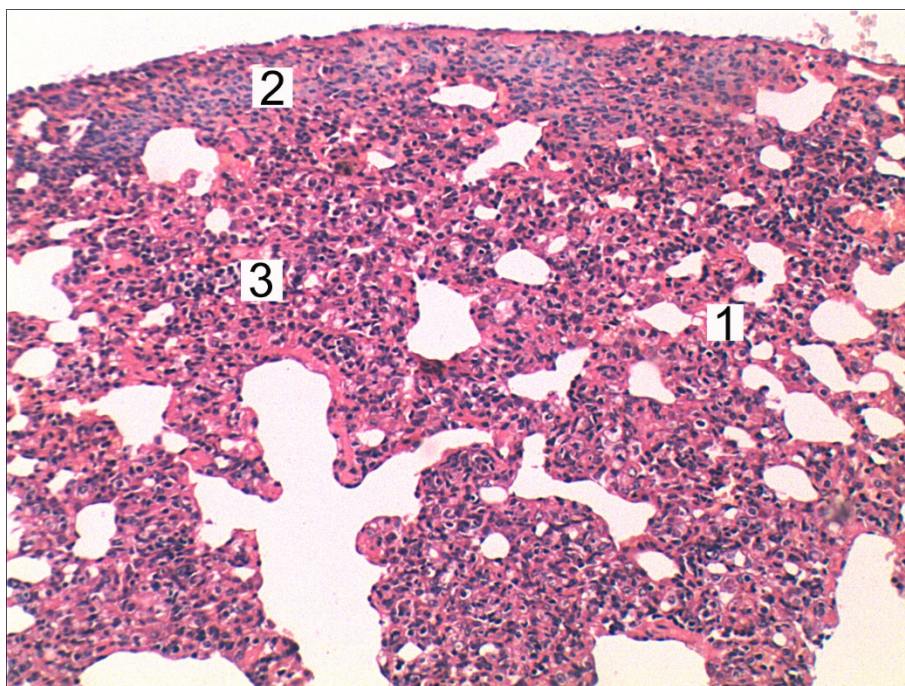


Рис. 4.25. Гістологічні зміни легені тварини старого віку за умов гіпергомоцистеїнемії. Ділянки дис- (1), та ателектазів (2), з лейкоцитарною інфільтрацією (3). Забарвлення гематоксиліном і еозином. $\times 200$.

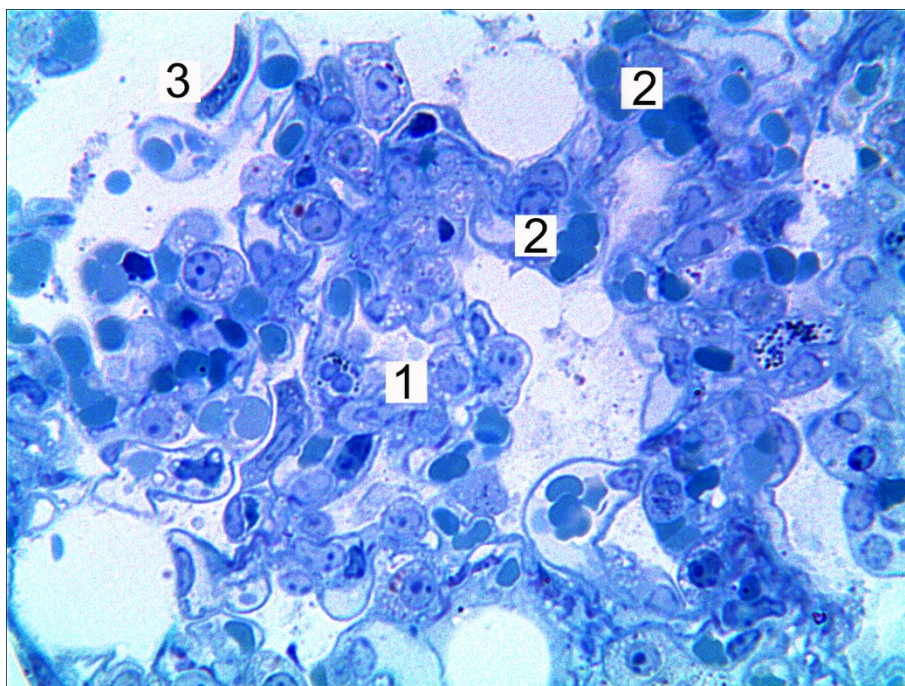


Рис. 4.26. Мікроскопічні зміни легені тварини старого віку за умов гіпергомоцистеїнемії. Ділянки дис- та ателектазів (1), кровонаповнені гемокапіляри (2), альвеолярні макрофаги (3) респіраторного відділу. Напівтонкий зріз. Забарвлення метиленовим синім. $\times 400$.

Таким чином, проведені гістологічні дослідження легень статевонезрілих тварин за умов ГГЦ встановили помірні деструктивні зміни судин, бронхів, компонентів респіраторного відділу. Гемодинамічні розлади і посилення судинної проникності призвели до периваскулярного, перибронхіального, інтерстиційного, внутрішньоальвеолярного набряку, гістолейкоцитарної інфільтрації. У тканині респіраторного відділу серед ділянок незміненої гістоструктури органу виявляли невеликі зони дис- та ателектазів, емфізематозного розширення. Зазначені зміни зворотні та мають пристосувально-компенсаторний характер.

Мікроскопічне вивчення легень дорослих тварин за умов ГГЦ встановило наявність пристосувально-компенсаторних та деструктивних змін компонентів органу. Ремоделювання стінок судин, особливо мікроциркуляторного русла, призводить до порушення кровопостачання органу та гіперперфузії тканини легень. В респіраторному відділі легень виявлено значні площі дис- і ателектазів та емфізематозно змінені ділянки паренхіми. В альвеолярних перегородках, перибронхіально та паравазально визначено гісто- та лейкоцитарну інфільтрацію, формування запальних конгломератів.

У тварин старого віку розвиваються найбільш значні деструктивно-дегенеративні зміни порівняно із дослідженнями легень груп молодих та зрілих тварин. Встановлено виражене ремоделювання судинного русла, бронхів, прояви запального характеру, збільшення ділянок дис- та ателектазів і емфізематозно змінених альвеол респіраторного відділу легень, виявляється порушення альвеолярних стінок з виходом формених елементів крові в альвеолярний простір, та утворення дрібних діapedезних крововиливів. Активація фібробластів проявляється посиленням колагеноутворенням, що зумовлює периваскулярний, перибронхіальний і інтерстиційний склероз, який чинить значний негативний вплив на процес газообміну в легенях.

Результати досліджень даного розділу дисертації відображені нами в чотирьох статтях у фахових наукових журналах України [59, 182, 185] та статті у закордонному фаховому виданні (Польща) [181].

РОЗДІЛ 5

ДИНАМІКА УЛЬТРАСТРУКТУРНИХ ЗМІН РЕСПІРАТОРНОГО ВІДДІЛУ ЛЕГЕНЬ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ ЗА УМОВ ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЇ

5.1. Ультроструктурний стан компонентів респіраторного відділу легень статевонезрілих, дорослих та старих тварин контрольної групи

Проведені ультроструктурні дослідження альвеолярної стінки респіраторного відділу легень дорослих тварин, встановили, що її утворюють два типи клітин, альвеолоцити (пнеumoцити) I і II типу, тонкий шар інтерстиційної пухкої сполучної тканини та стінкою гемокапілярів. Аерогематичний бар'єр сформований сурфактантом, периферичною, цитоплазматичною зоною ендотеліальної клітини, периферичною, цитоплазматичною ділянкою респіраторного альвеолоцита, поміж якими розмішена спільна базальна мембрана (рис. 5.1).

Найбільш чисельні клітини стінки альвеоли – альвеолоцити I типу. Їх особливість будови полягає в тому, що вони містять випуклу поверхню із ядром та об'ємні, тонкі, периферичні ділянки, де власне відбувається газообмін. Ядро пнеumoцитів I типу округле, з чітко контурованими мембранами каріолеми, каріоплазма електронноsvітла, наявні ядерця. В парануклеарній зоні містяться каналці і цистерни ендоплазматичної сітки і комплексу Гольджі, нечисельні мітохондрії. Основними структурними складовими клітин є периферичні, цитоплазматичні ділянки клітин, в яких наявні чисельні мікропухирці і везикули. Люменальна поверхня містить мікрворсинки (рис. 5.2).

Проведене субмікроскопічне вивчення респіраторного відділу легень статевонезрілих тварин встановило відносно потовщені стінки альвеол порівняно з легеньми дорослих тварин, що утруднює процес газообміну. Проте на деяких ділянках аерогематичний бар'єр мав типову ультроструктуру (рис. 5.3).

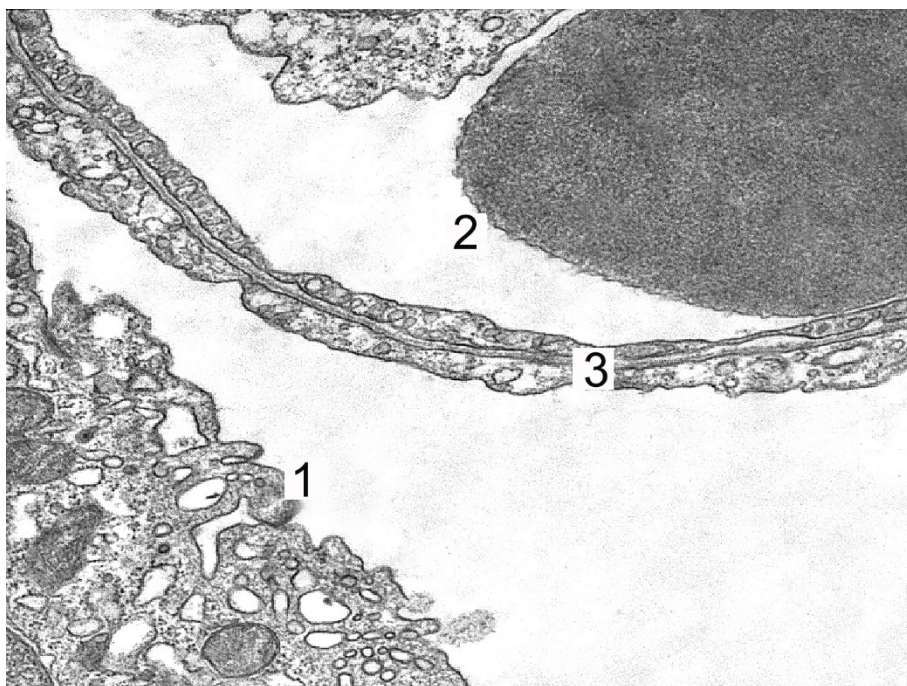


Рис. 5.1. Ультраструктурна організація респіраторного відділу легені дорослого щура інтактної групи. Просвіт альвеоли з фрагментом альвеолярного макрофага (1), просвіт гемокапіляра з форменими елементами крові (2), аерогематичний бар'єр (3). $\times 16\ 000$.

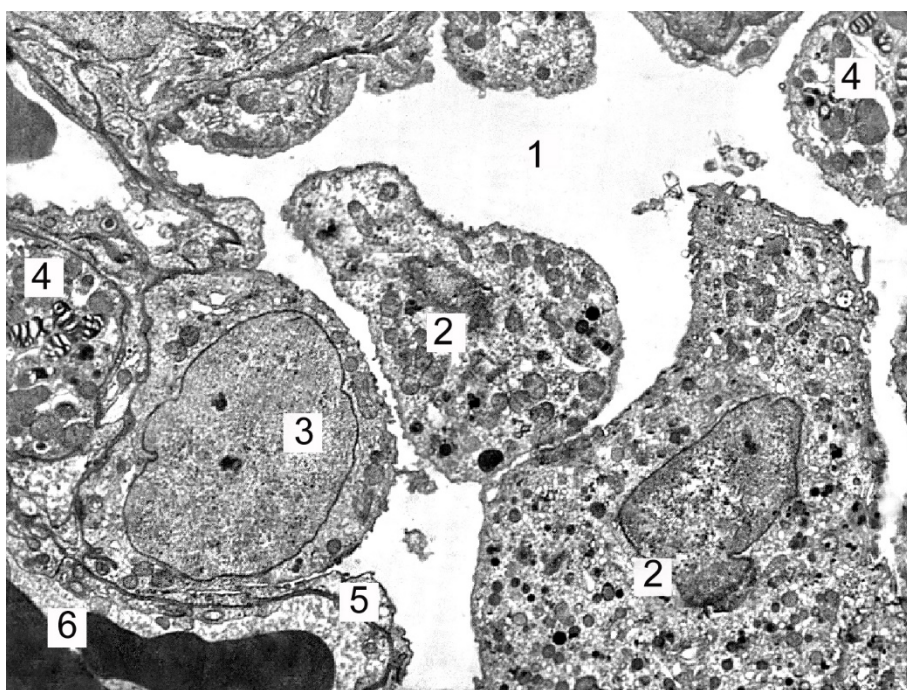


Рис. 5.2. Субмікроскопічна організація альвеоли респіраторного відділу легені дорослого щура інтактної групи. Просвіт альвеоли (1), альвеолярний макрофаг (2), респіраторний альвеолоцит (3), фрагмент альвеолоцита II типу (4) аерогематичний бар'єр (5), еритроцити в просвіті гемокапіляра (6). $\times 7\ 000$.

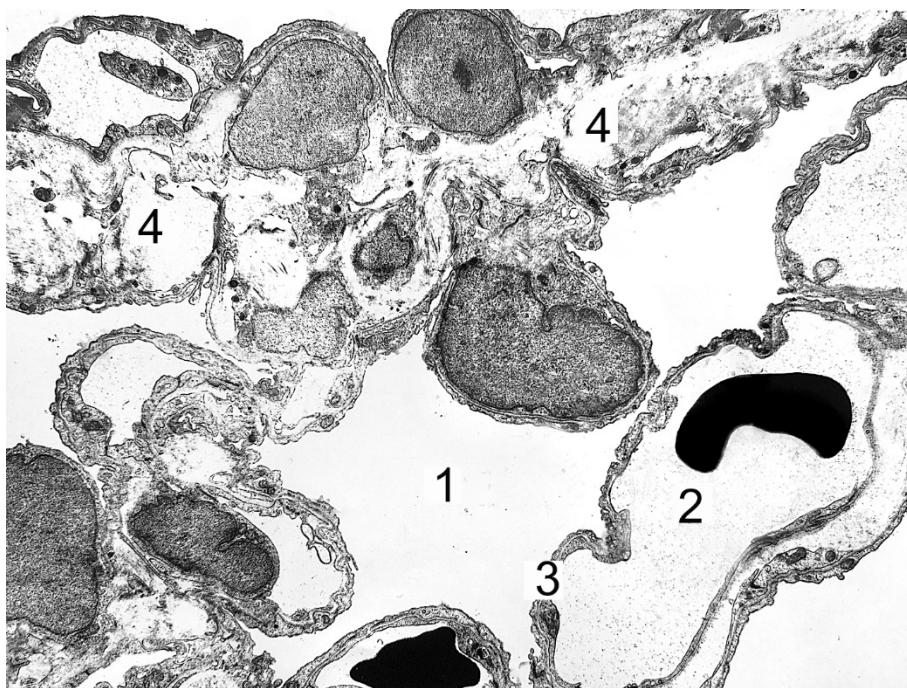


Рис. 5.3. Ультраструктурний стан фрагмента респіраторного відділу легені статевонезрілої тварини контрольної групи. Просвіт альвеоли (1), просвіт гемокапіляра (2), аерогематичний бар'єр (3), потовщення сполучнотканинного прошарку стінки альвеоли (4). $\times 8\ 000$.

Для стінки альвеол старих щурів також характерне потовщення сполучнотканинної основи стінки альвеоли. Характерною ультраструктурною особливістю виявилось значне стоншення аерогематичного бар'єру, що сповільнює газобмін у легенях (рис. 5.4).

Менш чисельні клітини стінки альвеоли дорослих тварин – альвеолоцити II типу або секреторні епітеліоцити. Вони розташовані між респіраторними епітеліоцитами або в місці злиття двох суміжних альвеол та виступають в просвіт альвеоли. Клітини містять досить велике округло-овальне ядро, в каріоплазмі міститься еухроматин. Цитоплазма включає добре розвинені органи загального призначення, наявні мітохондрії, протяжні каналці ендоплазматичної сітки та цистерни комплексу Гольджі, мікропухирці, везикули, виявляються також рибосоми. Інтенсивний розвиток вказаних органел забезпечує активний синтез складових компонентів ламелярних та мультивезикулярних тілець. Апікальна частина плазмолемі містить добре виражені мікроворсинки.

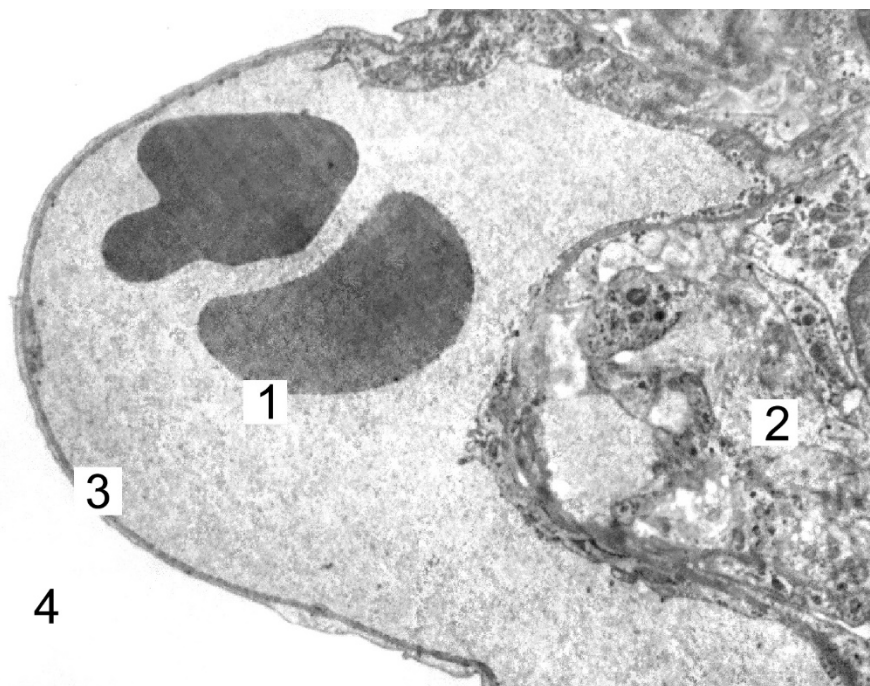


Рис. 5.4. Субмікроскопічний стан стінки альвеоли та гемокапіляра респіраторного відділу легені старої тварини контрольної групи. Просвіт гемокапіляра (1), сполучнотканинна основа стінки альвеоли (2), аерогематичний бар'єр (3), просвіт альвеоли (4). $\times 12\ 000$.

Характерною ультраструктурною особливістю альвеолоцитів II типу статевонезрілих щурів є великі осміофільні пластинчасті тільця в цитоплазмі. Вони містять велике округле ядро з неглибокими інвагінаціями, чисельні рибосоми в цитоплазмі, помірно розвинуті каналці ендоплазматичної сітки та цистерни комплексу Гольджі. Проте виявляється мало мікрворсинок на апікальній поверхні, що очевидно пов'язано з переважанням секреторних процесів в клітині над виведенням вмісту секреторних тілець (рис. 5.5).

До складу гемокапілярів аерогематичного бар'єру стінки альвеоли входять ендотеліоцити що лежать на тонкій базальній мембрані, яка є як правило спільною для епітеліоцитів альвеолярної стінки. Ендотеліальні клітини мають невелике, витягнутої форми ядро, чітку каріолему, добре виражені ядерні пори, наявні ядерця в каріоплазмі. В навколядерній зоні визначаються органели загального призначення. В периферичних, витончених ділянках виявляються чисельні міуропухирці та кавеоли, що забезпечують трансендотеліальний обмін.

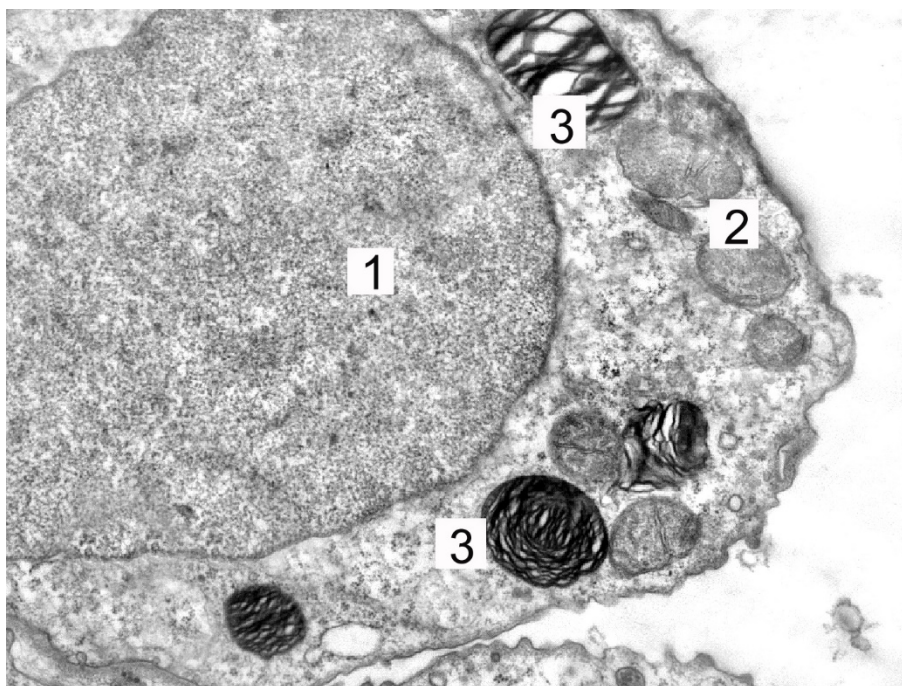


Рис. 5.5. Субмікроскопічний стан альвеолоцита II типу респіраторного відділу легень статевонезрілих тварин контрольної групи. Ядро (1), мітохондрії (2), осміофільні пластинчасті тільця (3). $\times 22\ 000$.

Визначаються фіксованими до стінки альвеоли або вільно розміщені в їх просвітах досить чисельні альвеолярні макрофаги зрілих щурів. Їх характерною особливістю будови є наявність чисельних інвагінацій та вип'ячувань плазмолемі, а в цитоплазмі осмофільних первинних та вторинних лізосом – фагосом. Ядра клітин великі, округлі, можуть мати нерівні контури плазмолемі. Цитоплазма містить розвинуті органели загального призначення (рис. 5.6).

В просвітах альвеол старих щурів визначаються активно фагоцитуючі альвеолярні макрофаги, які містять в цитоплазмі осміофільні лізосоми, на апікальній поверхні мікроворсинки, велике неправильної форми ядро з інвангінаціями каріолеми (рис. 5.7).

Проведене вивчення субмікроскопічної організації компонентів стінки альвеол респіраторного відділу легень тварин різних вікових груп показало, що складові компоненти стінки альвеоли (аерогематичний бар'єр, альвеолоцити I та II типу, альвеолярні макрофаги та сполучнотканнинна основа) мають характерні ультраструктурні ознаки будови, проте у статевонезрілих щурів сполучна

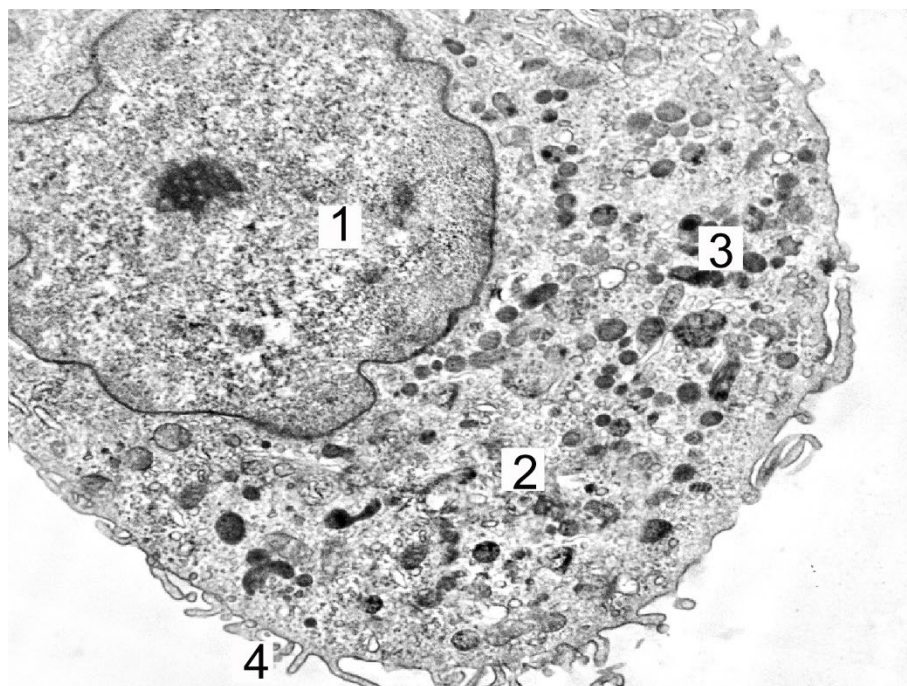


Рис. 5.6. Ультраструктурний стан легень статевонезрілих щурів інтактної групи. Ядро (1) і цитоплазма альвеолярного макрофага (2), осміюфільні лізосоми (3), вип'ячування плазмолемі поверхні клітини (4). $\times 13\ 000$.

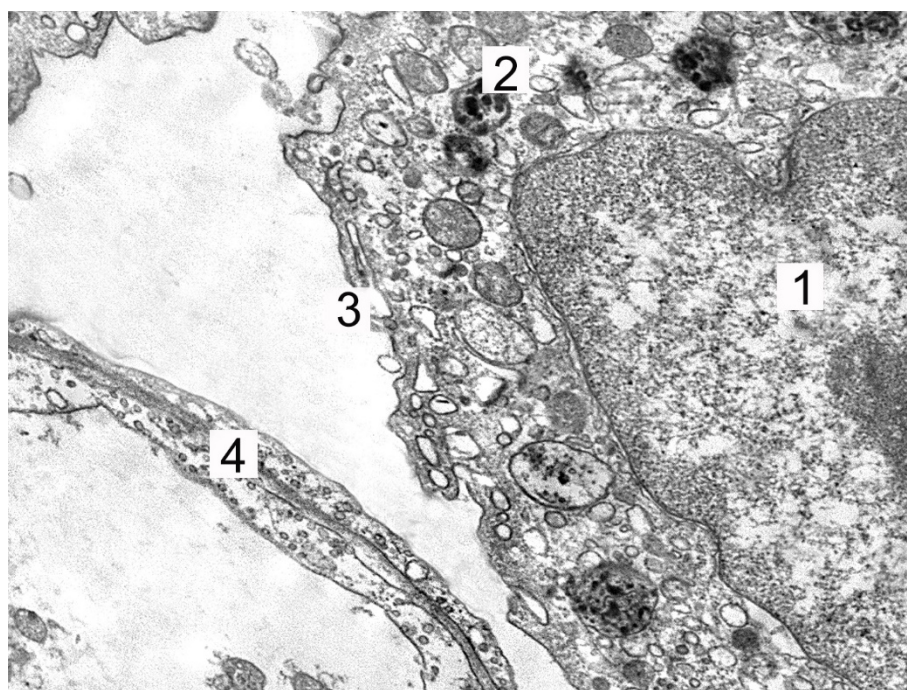


Рис. 5.7. Ультраструктурний стан альвеолярного макрофага респіраторного відділу легені старої тварини контрольної групи. Ядро (1), фагосоми (2), мікроборсинки (3), аерогематичний бар'єр (4). $\times 17\ 000$.

тканина стінки альвеоли потовщена, аерогематичний бар'єр старих щурів значно витончений, альвеолярні макрофаги містять чисельні осміофільні первинні і вторинні лізосоми.

Одержані дані електронномікроскопічного вивчення альвеол респіраторного відділу легень тварин є контролем та необхідні для дослідження змін в динаміці досліду.

5.2. Ультраструктура легень статевонезрілих щурів за умов гіпергомоцистемії

У паренхімі легень статевонезрілих тварин за умов ГГц спостерігались вираженні зміни як у альвеолах, так і у кровоносних капілярах. У альвеолах практично всі респіраторні альвеолоцити (пневмоцити I порядку) були набряклі. На фоні пухирів з рідиною набряку у інших зонах відмічалось значне стоншення цитоплазми (рис. 5.8 А, Б; рис. 5.9 А), у порівнянні з контрольною групою. Значне стоншення приводило до зменшення органел метаболічного плану, зокрема мітохондрії втрачали кристи і були набряклі. Різке стоншення епітеліального вистелення приводило до випинання респіраторних епітеліоцитів, їх розриву та полегшенню проникнення плазми крові з білковими конгломератами у просвіт альвеол (див. рис. 5.8 А, Б, В, Г). Між респіраторними епітеліоцитами визначаються секреторні клітини (пневмоцити II порядку), які виробляють сурфактант.

У більшості клітин пластинчасті тільця мають вигляд вакуолей, в яких розміщений електроннощільний субстрат, утворений в результаті дезагрегації пластин (див. рис. 5.9 Б). Мітохондрії секреторних клітин спостерігались у невеликій кількості з незначною деструкцією крист (рис. 5.9 Б). Окрім респіраторних і секреторних альвеолоцитів виявлялись ще вільно розміщені у просвіті альвеол та прикріплені макрофаги. Останні мали, як і секреторні клітини, невелику кількість дрібних мітохондрій з деструктивно зміненими кристами і

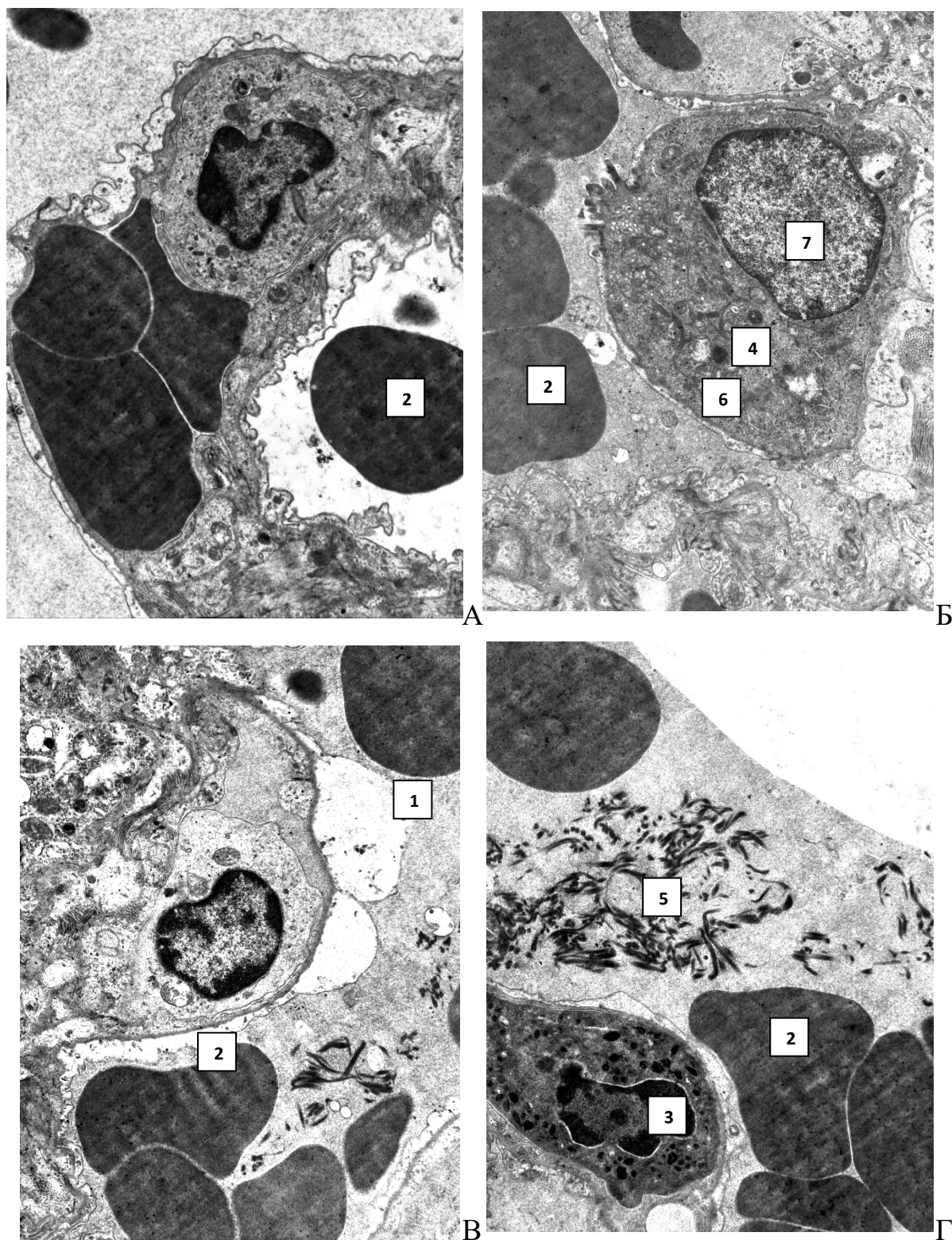


Рис. 5.8. Респіраторний відділ легень статевонезрілих щурів за умов гіпергомоцистеїнемії. Набряк цитоплазми респіраторних альвеолоцитів (1), еритроцити у просвіті альвеоли (2), лімфоцит та нейтрофіл у просвіті капілярів (3), альвеолярний макрофаг (4), фібрин та плазма крові у просвіті альвеоли (5), мітохондрії (6), ядро (7). А – $\times 16\ 000$; Б – $\times 14\ 000$, В – $\times 12\ 000$; Г – $\times 12\ 000$.

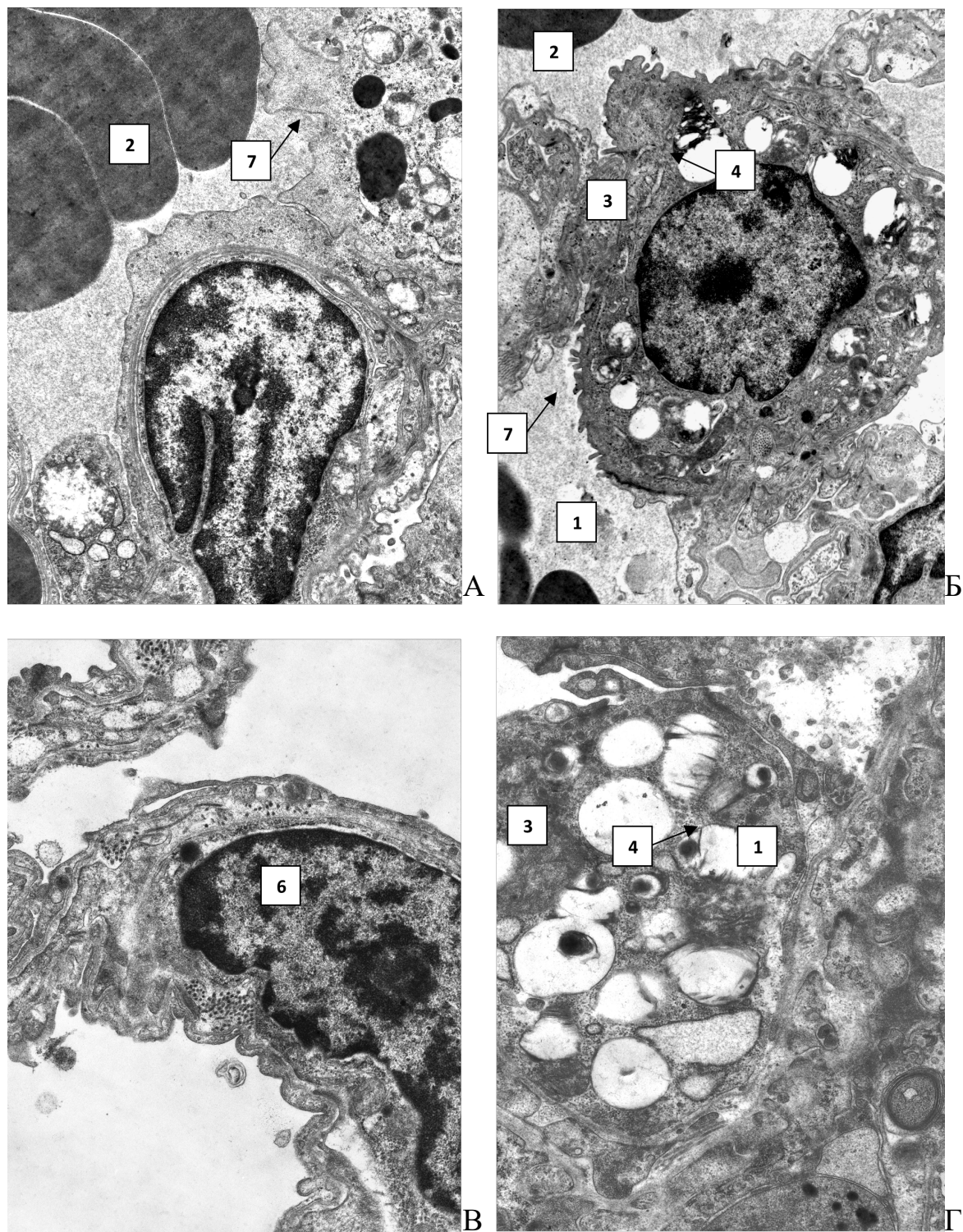


Рис. 5.9. Респіраторний відділ легень статевонезрілих щурів за умов гіпергомоцистемії. Плазма крові у проясненні альвеоли (1), еритроцити у проясненні альвеол (2), секреторний альвеолоцит (3), пластинчасті тільця (4 →), мітохондрії (5), ядро (6), вирости цитоплазми (7 →). А – $\times 6\,500$, Б – $\times 6\,000$, В – $\times 10\,000$, Г – $\times 12\,000$.

електронно-світлим матриксом, мікроворсинки та випинання цитоплазми, кількість яких значно збільшується у дослідних тварин.

Вмістом цих випинань була електроннощільна речовина, аналогічна плазмі крові, яка виявлялась і в цитоплазмі респіраторних та секреторних клітин (див. рис. 5.9 А, Б, В, Г). Очевидно, трансудат із просвіту капілярів проникає не тільки через міжклітинні контакти, а і через цитоплазму всіх клітин, які вистилають альвеолу. Звертає на себе увагу наявність у просвітах альвеол великої кількості фібрину та еритроцитів у оточенні електроннощільного субстрату по консистенції аналогічного плазмі крові, що, очевидно, пов'язано зі зменшенням сурфактантної плівки у альвеолах та підвищенням трансудації рідини з капілярів, які локалізуються у міжальвеолярних перегородках (див. рис. 5.8А, Б; 5.9 А, Б).

При цьому, у просвіті кровоносних капілярів плазма має аналогічну консистенцію і у ній виявляються нейтрофіли, лімфоцити та еритроцити. Цитоплазма ендотеліоцитів дуже тонка, особливо у периферійній зоні, що приводить до стоншення аерогематичного бар'єру та може розглядатись як прояв компенсаторно-приспосувальних процесів (див. рис. 5.8, 5.9). Просвіти капілярів, як правило, obtуровані форменими елементами крові (еритроцитами, макрофагами, лімфоцитами, нейтрофілами).

Збільшення вмісту формених елементів та трансудату в альвеолах призводило до спадання просвітів у деяких капілярах. Специфічними ознаками для цього терміну дослідження була наявність у альвеолярному просторі трансудату, який містив білки плазми крові та фібринові волокна; складж-феномен, що перешкоджав кровотоку; набряк респіраторних альвеолоцитів.

5.3. Ультраструктура легень дорослих щурів за умов гіпергомоцистемії

Електронномікроскопічне дослідження респіраторного відділу легень дорослих тварин показало, що у порівнянні з статевонезрілими щурами в

альвеолах у меншій мірі спостерігалось накопичення клітинного детриту. При цьому самі просвіти дещо звужені, а респіраторний епітелій частково стоншений і десквамований (рис. 5.10 А, Б). У просвіті альвеол виявлялась підвищена кількість макрофагів, у порівнянні з контрольними та молодими тваринами, у цитоплазмі яких, зосереджені фагосоми та аутофагосоми. Наявність останніх та активація гранулярної ендоплазматичної сітки за умов гомоцистеїнемії свідчить про деградацію білків, підсилення запальних процесів, які в свою чергу індукують аутоімунну відповідь, підтвердженням чого є збільшення кількості макрофагів. У частини із них зруйнована повністю або локально плазматична мембрана, а вміст цитоплазми з окремими органелами спостерігався у просвіті альвеоли.

Клітинний детрит макрофагів доповнювався зруйнованими залишками цитоплазми ушкоджених респіраторних і секреторних клітин альвеол та ендотеліоцитів кровоносних капілярів (див. рис. 5.10 В, Г). У кровоносних капілярах з неушкодженим ендотеліальним вистеленням, як правило, визначався сладж-феномен, тобто у їх просвітах виявлялось скупчення еритроцитів, а інколи і інших формених елементів крові (нейтрофілів, лімфоцитів) (рис. 5.11 А, Б). Міжальвеолярні перегородки, у порівнянні з контрольною групою тварин, були дещо потовщені за рахунок невеликого відкладання колагенових волокон та основної речовини. У деяких тварин просвіт obtурований еозинофілами або лімфоцитами (див. рис. 5.11 В, Г).

Специфічними ознаками для дорослих тварин за умов ГГц було звуження альвеолярного простору частини альвеол і збільшення у них макрофагів, часткова десквамація ендотеліального вистелення капілярів та незначне збільшення колагенових волокон у міжальвеолярних перетинках, в порівнянні з статевонезрілими щурами групи досліджу, та контрольними тваринами.

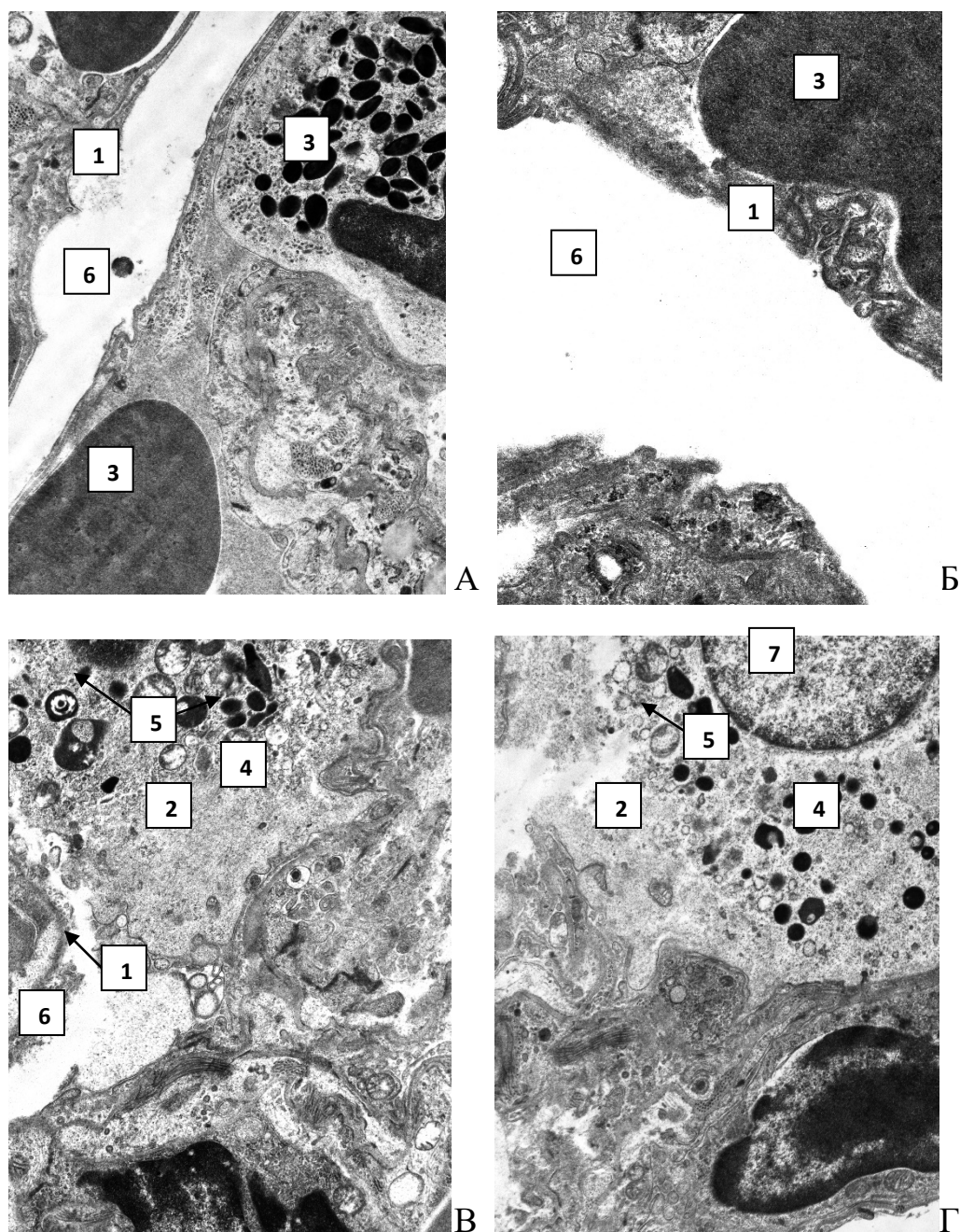


Рис. 5.10. Респіраторний відділ легень дорослих щурів за умов гіпергомоцистеїнемії. Зони десквамації респіраторних альвеолоцитів (1), макрофаги у просвіті альвеоли (2), формені елементи крові у просвіті капіляра (3), фагосоми (4) та аутофагосоми (5) у цитоплазмі макрофага, просвіт альвеоли (6), ядро макрофага (7), гранулярна ендоплазматична сітка (8). А – $\times 16\ 000$, Б – $\times 14\ 000$, В – $\times 14\ 000$, Г – $\times 14\ 000$.

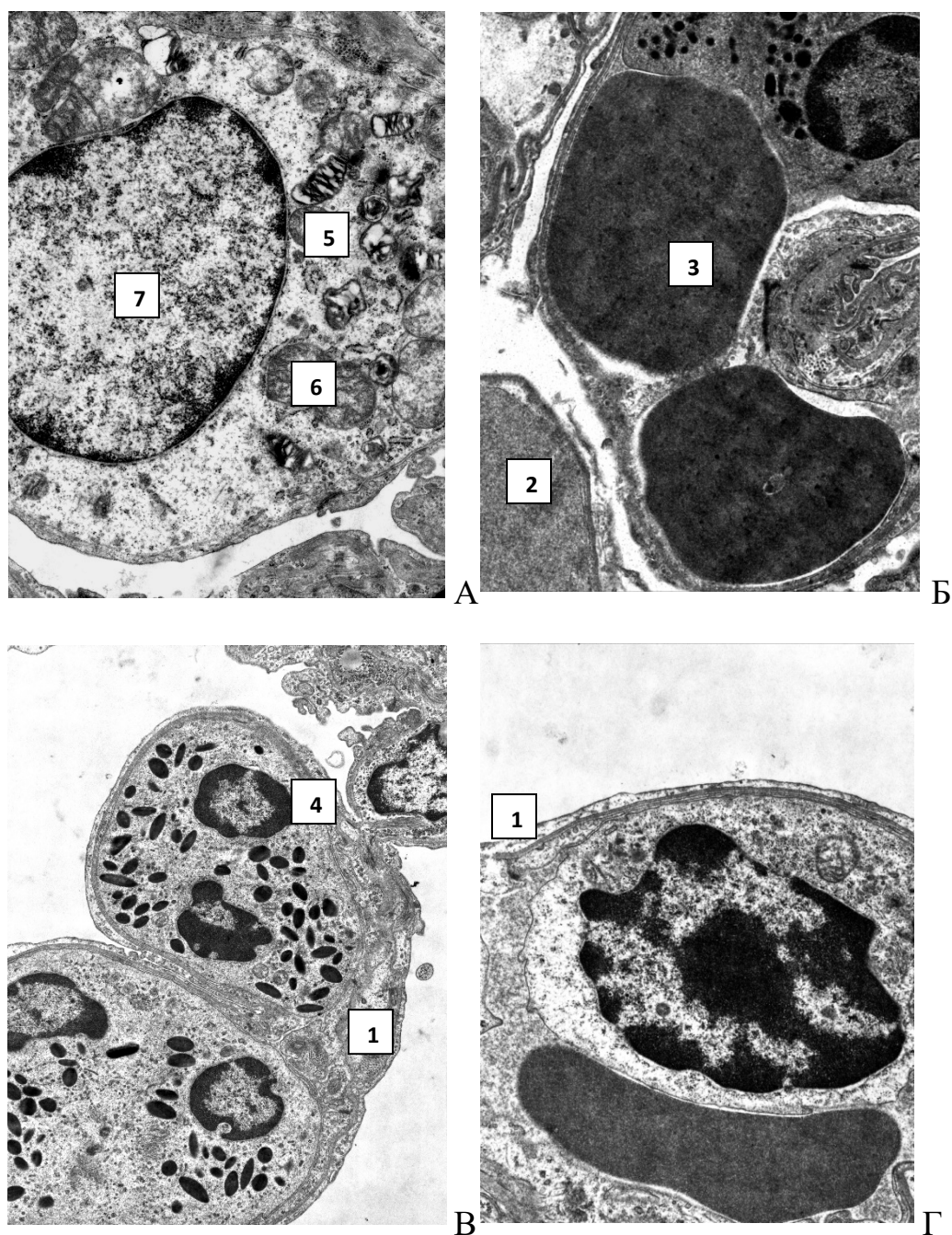


Рис. 5.11. Респіраторний відділ легень дорослих щурів за умов гіпергомоцистеїнемії. Респіраторні альвеолоцити (1), еритроцит у просвіті альвеоли (2), формені елементи крові у просвіті капіляра (3), еозинофіли у просвіті капіляра (4), пластинчасті тільця у секреторних альвеолоцитах (5), мітохондрії в оточенні елементів гранулярної ендоплазматичної сітки (6), ядро (7). А – $\times 16\ 000$, Б – $\times 14\ 000$, В – $\times 12\ 000$, Г – $\times 14\ 000$.

5.4. Ультраструктура легень старих щурів за умов гіпергомоцистемії

Старі тварини відрізнялись від двох попередніх груп значним розростанням пухкої волокнистої сполучної тканини, зокрема колагенових волокон та фібробластів, які їх продукують. Це призводить до спадіння просвітів кровоносних судин і, відповідно, порушення трофіки респіраторного відділу легень (рис. 5.12 А, Б). Підтвердженням цього є наявність у просвітах альвеол фрагментів макрофагів, формених елементів крові, фібрину та електроннощільного білкового вмісту, подібного плазмі крові. Респіраторний епітелій (пневмоцити I порядку) альвеол частково набряклий, виступає у просвіт, а у деяких зонах стоншений (див. рис. 5.12 Б).

Секреторні епітеліоцити (пневмоцити II порядку) спостерігались частіше, ніж у попередніх групах тварин, включали більше секреторних (пластинчастих) тілець, більших за розмірами, але у них відсутні пластинки, тому вони мають вигляд вакуолей, що містять невелику кількість електроннощільного матеріалу, який, очевидно, включає фосфоліпіди. Такі секреторні клітини випинають у просвіт альвеоли, звужуючи просвіт капілярів. З іншого боку, через плазматичну мембрану цих клітин у просвіт альвеоли виділяються вакуолі з вмістом помірної щільності (див. рис. 5.12 В, Г).

Розростання колагенових волокон та накопичення основної речовини і наявність клітинного детриту у просвіті альвеол активізували макрофаги як міжепітеліальні, так і вільно розміщені у альвеолах, що свідчить про прогресування запальних процесів у респіраторному відділі легень старих тварин за умов ГГц (див. рис. 5.12 А, Б).

Колагенізація міжальвеолярних перегородок та просякнення їх рідиною набряку або ж скупчення у них пухирів з плазмою крові різко змінює структурну організацією ендотеліального вистелення кровоносних капілярів.

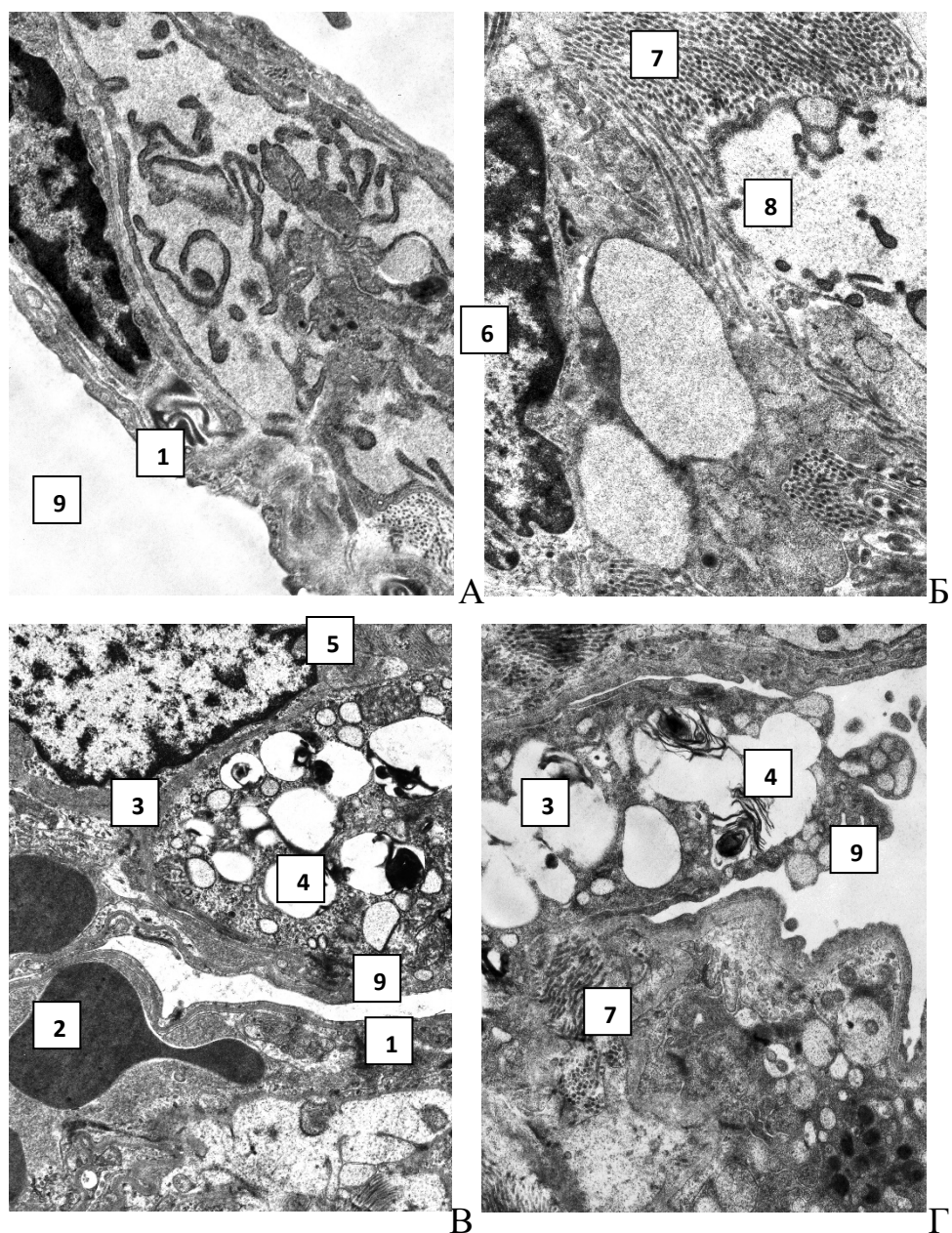


Рис. 5.12. Респіраторний відділ легень старих щурів за умов гіпергомоцистеїнемії. Респіраторні альвеолоцити (1), еритроцит у просвіті капіляра (2), секреторний альвеолоцит (3), пластинчасті тільця (4), мітохондрії (5), ядро фібробласта (6), колагенові волокна (7), просвіт капіляра з десквамованим ендотелієм (8) просвіт альвеоли (9). А, Б, В, Г – $\times 14\ 000$.

Вищесказане приводить до стоншення ендотелію, ушкодження його цілісності, аж до розпаду та часткової десквамації у просвіт судин (див. рис. 5.12 А, Б). Такі зміни у кровоносних капілярах також активізують вогнищеві

запальні процеси. У частини кровоносних капілярів просвіт звужується, а у інших капілярів повністю перекривається (див. рис. 5.12 В, Г).

Окрім того, у деяких капілярах ендотеліоцити зазнають апоптозних змін, які проявляються округленням клітин, втратою мікрровиростів, збільшенням розмірів, зменшенням кількості органел метаболічного плану, відсутністю мікропіноцитозних пухирців, які відповідають за трансендотеліальний перенос речовин та пікнозом ядер з подальшим формуванням залишкових тілець (рис. 5.13 А). Як правило, апоптоз характерний для тих судин, що мають у просвіті скупчення білків плазми та тромбоцитів. У цитоплазмі таких клітин знаходяться тільця Вайбеля-Паладе, які, як відомо, містять фактор Вілленбранда – фактор, що сприяє агрегації тромбоцитів та прикріплення їх до ушкодженої стінки судини. Також тільця Вайбеля-Паладе синтезують Р-селектин, який сприяє переходу лейкоцитів, через ендотеліальне вистелення стінки судин при запаленні.

Підтвердженням запального процесу у респіраторному відділі старих тварин може бути наявність активних форм плазмоцитів, оточених клітинним детритом і зруйнованими еритроцитами та колагеновими волокнами у міжальвеолярних перегородках. Цитоплазма плазмоцитів переповнена розширеними каналцями гранулярної ендоплазматичної, які містять гама-глобуліни (див. рис. 5.13 Б). Як і у дорослих тварин, для стінки альвеол характерна присутність макрофагів у досить активній формі, про що свідчить скупчення у їх цитоплазмі великої кількості лізосом, фагосом та аутофагосом (див. рис. 5.13 В, Г). Однак слід відмінити, що візуально кількість макрофагів значно менша, ніж у зрілих тварин. Зміни у структурі капілярів та альвеол приводять до розладу аерогематичного бар'єру.

Для старих тварин за умов ГГц характерно розростання сполучної тканини, переважно колагенових волокон, що приводило до пневмосклерозу, потовщення компонентів аерогематичного бар'єру. Ендотеліальне вистелення останнього було при цьому переривчастим або десквамованим, а клітини підлягали апоптозу чи некрозу.

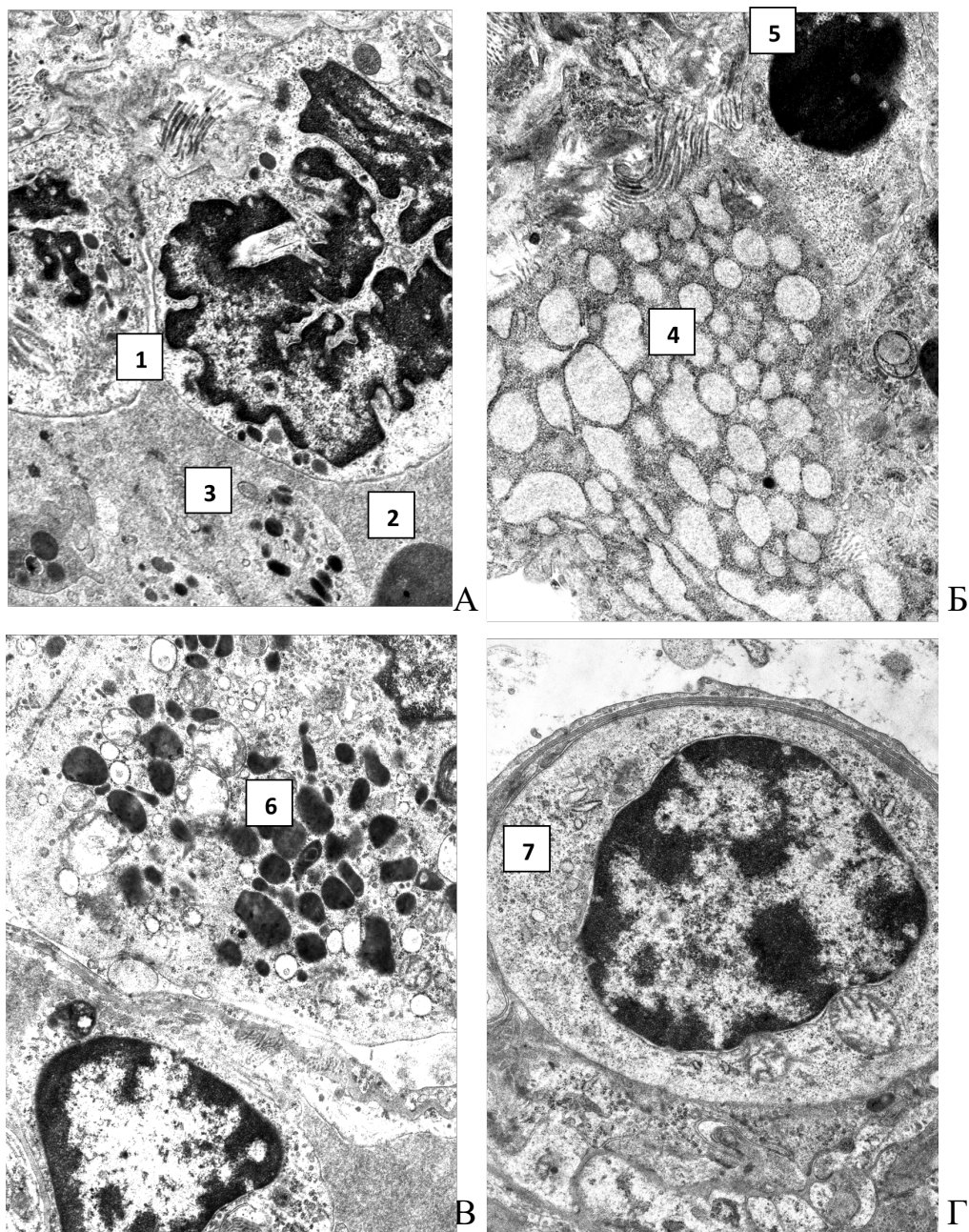


Рис. 5.13. Респіраторний відділ легень старих щурів за умов гіпергомоцистеїнемії. Ендотеліоцити на різних стадіях апоптозу (1), еритроцит (2) та тромбоцити (3) у просвіті капіляра, плазмоцит (4), та еритроцит (5), у зоні некрозу, макрофаг (6), лімфоцит (7) у просвіті капіляра. А, Б, В – $\times 12\ 000$, Г – $\times 16\ 000$.

5.5. Морфометричний аналіз ультраструктурних змін легень щурів різного віку на тлі гіпергомоцистеїнемії

Було виконано тест на оцінку нормальності розподілу значень вказаних морфометричних параметрів у аналізованих групах за допомогою критеріїв Колмогорова-Смирнова та Д'Агостіно-Пірсона. При розбіжності результатів перевірки на нормальність розподілу між цими двома критеріями враховувався результат, отриманий за допомогою критерію Д'Агостіно-Пірсона, як більш потужного.

Отримані первинні дані, оброблені методом описової статистики, представлені у таблиці 5.1. У випадку нормального розподілу значень – дані представлені у вигляді середнього значення \pm середньоквадратичне відхилення, довірчий інтервал ($\text{Mean} \pm \text{S.D.}$, 95 % UpperCI ofmean, 95 % LowerCI ofmean), у випадку розподілу значень, що відрізнявся від нормального (*) дані представлені у вигляді середнього значення \pm середньоквадратичне відхилення ($\text{Mean} \pm \text{S.D.}$), медіана, розмах, довірчий інтервал (median, range, UpperCI ofMedian, 95 % LowerCI ofMedian).

Таблиця 5.1

Ультраструктурні морфометричні зміни в легенях щурів різного віку на тлі гіпергомоцистеїнемії.

Групи тварин	Показники	Вік тварин		
		Статевонезрілі	Дорослі	Старі
Контроль	Площа альвеолоцитів II типу, μm^2	$35,93 \pm 7,103$	$43,75 \pm 8,515$	$58,56 \pm 20,29$
		31,16-40,70	38,34-49,16	44,93-72,19
	Питома кількість пластинчастих тілець $1/\mu\text{m}^2$	$0,41 \pm 0,10$	$0,15 \pm 0,08$	$0,18 \pm 0,08$
		0,34-0,48	0,06-0,22	0,13-0,24
	Кількість пластин. тілець у 1 альвеолоц. II типу, шт.	$14,64 \pm 3,23$	$6,75 \pm 4,00$	$10,09 \pm 3,11$
		12,46-16,81	4,20-9,29	8,00-12,18

Продовження табл. 5.1

Контроль	Площа пластинчастого тільця, um^2	$0,46 \pm 0,34^*$	$0,37 \pm 0,33^*$	$0,68 \pm 0,57^*$
		0,42; 1,5; 0,33-0,49	0,23; 2,27; 0,22-0,37	0,55; 3,35; 0,43-0,66
	Сумарна площа пластинчастих тілець у 1 альвеолоциті II типу, um^2	$6,79 \pm 2,49$	$2,53 \pm 1,94$	$6,92 \pm 3,25^*$
		5,11-8,47	1,30-3,77	6,24; 10,57; 3,94-10,98
	Питома площа пластинчастих тілець, um^2/um^2	$0,19 \pm 0,07$	$0,06 \pm 0,05^*$	$0,12 \pm 0,06$
		0,14-0,24	0,04; 0,18; 0,02-0,09	0,08-0,17
Щільність пластинчастих тілець	$199,6 \pm 29,9$	$178,7 \pm 30,86$	$188,7 \pm 36,80$	
	195,0-204,3	171,9-185,5	181,8-195,6	
Дослід	Площа альвеолоцитів II типу, um^2	$52,94 \pm 26,52^*$	$45,10 \pm 16,03^*$	$108,1 \pm 64,18^*$
		33,76; 21,74; 29,67-72,15	43,54; 55,66; 29,56-62,82	92,17; 229,1; 48,64-163,1
	Кількість пласт. тілець у 1 альвеолоц. II типу, шт.	$8,33 \pm 4,63$	$8,45 \pm 4,94$	$13,09 \pm 6,48$
		5,38-11,28	5,13-11,78	8,73-17,45
	Питома кількість пластинчастих тілець $1/\text{um}^2$	$0,16 \pm 0,06^*$	$0,19 \pm 0,12^*$	$0,13 \pm 0,04$
		0,13; 0,21; 0,11-0,23	0,19; 0,46; 0,11-0,28	0,10-0,15
	Площа пластинчастого тільця, um^2	$0,57 \pm 0,33^*$	$0,42 \pm 0,27^*$	$1,35 \pm 0,94^*$
		0,53; 1,99; 0,44-0,62	0,35; 1,27; 0,31-0,41	1,16; 4,66; 0,97-1,34
	Сумарна площа пластин. тілець у 1 альвеолоциті II типу, um^2	$4,80 \pm 3,58^*$	$3,61 \pm 3,80^*$	$17,66 \pm 14,42^*$
		3,67; 12,84; 2,39-6,94	2,78; 13,49; 1,42-4,60	15,62; 52,23; 4,19-24,18
	Питома площа пластинчастих тілець, um^2/um^2	$0,08 \pm 0,03$	$0,07 \pm 0,05$	$0,15 \pm 0,05$
		0,06-0,10	0,04-0,11	0,11-0,18
	Щільність пластинчастих тілець	$194,0 \pm 33,07$	$192,8 \pm 35,14$	$198,9 \pm 28,98$
		187,5-200,6	185,6-200,1	194,2-203,7

Для встановлення відмінностей між значенням параметрів у тварин різного віку всередині кожної з груп тварин (контрольна та дослідна), враховуючи множинні порівняння, використовувався критерій Краскела-Уолліса (табл. 5.2). Достовірними вважалися відмінності за умови $p < 0,05$.

Таблиця 5.2

Відмінності між значеннями ультраструктурних параметрів у тварин різного віку всередині кожної з груп.

Групи тварин	Показник	Наявність відмінностей показників всередині груп "контроль" та "дослід" між підгрупами "статевонезрілі", "дорослі" та "старі"
Контроль	Площа альвеолоцитів II типу, μm^2	різниця наявна
		$p=0,02$
	Кількість пласт. тілець у 1 альвеолоц. II типу, шт.	різниця наявна
		$p=0,0003$
	Питома кількість пластинчастих тілець $1/\mu\text{m}^2$	різниця наявна
		$p < 0,0001$
	Площа пластинчастого тільця, μm^2	різниця наявна
		$p < 0,0001$
	Сумарна площа пласт. тілець у 1 альвеолоциті II типу, μm^2	різниця наявна
		$p=0,0006$
	Питома площа пластинчастих тілець, $\mu\text{m}^2/\mu\text{m}^2$	різниця наявна
		$p=0,0002$
	Щільність пластинчастих тілець	різниця наявна
		$p < 0,0001$
Дослід	Площа альвеолоцитів II типу, μm^2	різниця наявна
		$p=0,0035$

Продовження табл. 5.2

Дослід	Кількість пласт. тілець у 1 альвеолоц. II типу, шт.	різниця відсутня
		p=0,1637
	Питома кількість пластинчастих тілець 1/um ²	різниця відсутня
		p=0,3324
	Площа пластинчастого тілця, um ²	різниця наявна
		p<0,0001
	Сумарна площа пласт. тілець у 1 альвеолоц. II типу, um ²	різниця наявна
		p=0,0007
	Питома площа пластинчастих тілець, um ² /um ²	різниця наявна
		p=0,0057
	Щільність пластинчастих тілець	різниця відсутня
		p=0,3038

Для встановлення відмінностей між значенням параметрів всередині кожної з груп та відмінностей між групами на однакових термінах спостереження використовували непараметричний критерій Мана-Уїтні (табл. 5.3, 5.4).

Таблиця 5.3

Результати порівняння параметрів між тваринами контрольної та дослідної груп за допомогою критерію Манна-Уїтні.

Показники	Вік тварин		
	статевонезрілі	дорослі	старі
Площа альвеолоцитів II типу	Різниця відсутня	Різниця відсутня	Різниця наявна
	p=0,1335	p=6947	p=0,0336
Кількість пласт. тілець у 1 альвеолоциті II типу	Різниця наявна	Різниця відсутня	Різниця відсутня
	p=0,0041	p=0,4748	p=0,2594

Продовження табл. 5.3

Питома кількість пластин. тілець	Різниця наявна	Різниця відсутня	Різниця відсутня
	p<0,0001	p=0,5254	p=0,0652
Площа пластинчастого тілець	Різниця наявна	Різниця відсутня	Різниця наявна
	p=0,0029	p=0,0546	p<0,0001
Сумарна площа пласт. тілець у 1 альвеолоц. II типу	Різниця відсутня	Різниця відсутня	Різниця наявна
	p=0,0688	p=0,4134	p=0,0281
Питома площа пластинч. тілець	Різниця наявна	Різниця відсутня	Різниця відсутня
	p=0,0010	p=0,4134	p=0,3316
Щільність пластинчастих тілець	Різниця відсутня	Різниця наявна	Різниця наявна
	p=0,1400	p=0,0043	p=0,0371

Таблиця 5.4

Результати порівняння параметрів між тваринами різного віку всередині груп за допомогою критерію Манна-Уїтні.

Групи тварин	Показники	Вік тварин		
		статевонезрілі /дорослі	статевонезрілі /старі	дорослі/старі
Контроль	Площа альвеолоцитів II типу	Різниця наявна	Різниця наявна	Різниця наявна
		p=0,0225	p=0,0019	p=0,0225
	Кількість пласт. тілець у 1 альвеолоциті II типу	Різниця наявна	Різниця наявна	Різниця наявна
		p<0,0001	p=0,0047	p=0,0486
	Питома кількість пластинчастих тілець	Різниця наявна	Різниця наявна	Різниця відсутня
		p<0,0001	p<0,0001	p=0,6075

Продовження табл. 5.4

Контр оль	Площа пластинчастого тілця	Різниця наявна	Різниця наявна	Різниця наявна
		p=0,0453	p=0,0007	p<0,0001
	Сумарна площа пластинч. тілець у 1 альвеол. II типу	Різниця наявна	Різниця відсутня	Різниця наявна
		p=0,0002	p=0,8977	p=0,0010
	Питома площа пластинчастих тілець	Різниця наявна	Різниця наявна	Різниця наявна
		p<0,0001	p=0,0400	p=0,0036
Щільність пластинчастих тілець	Різниця наявна	Різниця наявна	Різниця наявна	
	p<0,0001	p=0,0202	p=0,0091	
Дослід	Площа альвеолоцитів II типу	Різниця відсутня	Різниця наявна	Різниця наявна
		p=0,7399	p=0,0070	p=0,0010
	Кількість пластинч. тілець у 1 альвеолоциті II типу	Різниця відсутня	Різниця відсутня	Різниця відсутня
		p=0,8671	p=0,0755	p=0,1440
	Питома кількість пластинчастих тілець	Різниця відсутня	Різниця відсутня	Різниця відсутня
		p=0,5658	p=0,4134	p=0,1513
	Площа пластинчастого тілця	Різниця наявна	Різниця наявна	Різниця наявна
		p=0,0006	p<0,0001	p<0,0001
	Сумарна площа пластинч. тілець у 1 альвеол. II типу	Різниця відсутня	Різниця наявна	Різниця наявна
		p=0,2875	p=0,0010	p=0,0004
	Питома площа пластинчастих тілець	Різниця відсутня	Різниця наявна	Різниця наявна
		p=0,3793	p=0,0056	p=0,0052
	Щільність пластинчастих тілець	Різниця відсутня	Різниця відсутня	Різниця відсутня
		p=0,7945	p=0,2286	p=0,1763

Дані морфометричного аналізу свідчать про однонаправленість змін *площі альвеолоцитів II типу* як у тварин контрольної, так і дослідної груп у вигляді прогресивного зростання даного показника в залежності від віку. При чому, значення його у статевонезрілих та дорослих тварин при порівнянні контрольної та дослідної груп достовірно не відрізнялося, на відміну від старих тварин, де даний показник у щурів з ГГц був суттєво достовірно вищим за такий у контрольній групі.

Показник *кількості пластинчастих тілець у 1 альвеолоциті II типу* у тварин контрольної групи зменшувався у дорослих тварин із подальшим зростанням у старих щурів. У статевонезрілих, дорослих та старих тварин дослідної групи кількість пластинчастих тілець у 1 альвеолоциті II типу залишалася стабільною. Відмінності у значенні даного показника між тваринами контрольної та дослідної групи були наявні лише серед статевонезрілих тварин (рис. 5.14).

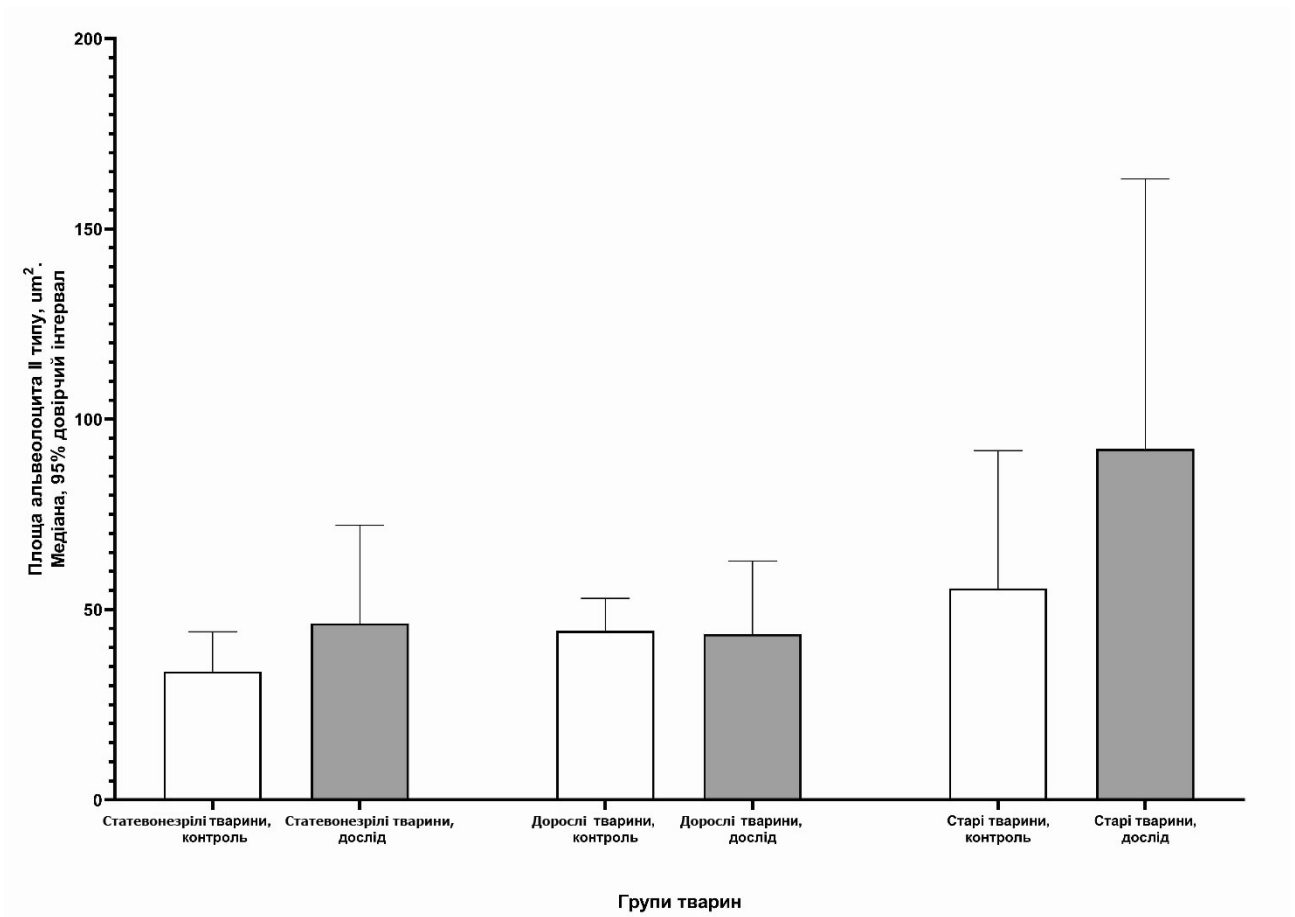


Рис. 5.14. Кількість пластинчастих тілець у 1 альвеолоциті II типу у тварин контрольної та дослідних груп.

Зміни показника *площі пластинчастого тільця* мали однонаправлений характер як у тварин контрольної, так і дослідної групи: із зменшенням даного показника у дорослих тварин та з подальшим наростанням значення його у старих. Проте, при порівнянні даного показника між тваринами контрольної та дослідної груп однакового віку встановлено, що площа пластинчастого тільця була достовірно більшою у тварин дослідної групи. Серед статевонезрілих та дорослих тварин даний показник суттєво не відрізнявся, проте він був суттєво достовірно вищим у старих щурів дослідної групи (рис. 5.15).

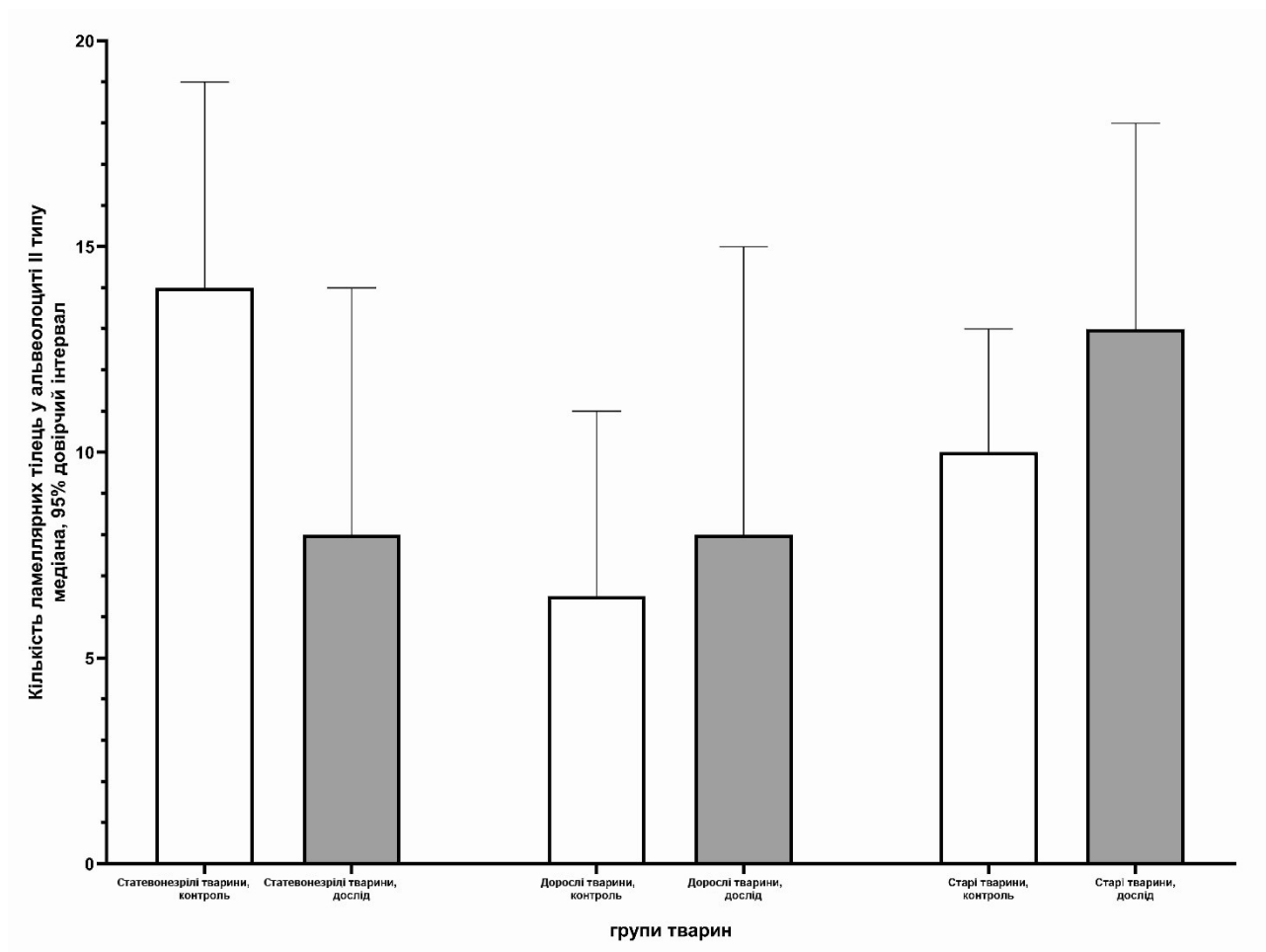


Рис. 5.15. Показник площі пластинчастого тільця у тварин контрольної та дослідних груп.

Дослідження *сумарної площі пластинчастих тілець* у 1 альвеолоциті II типу показало, що у тварин контрольної групи даний показник в дорослому віці

суттєво зменшувався, у порівнянні із статевонезрілими тваринами та зростав у старих щурів. Натомість, у тварин дослідної групи даний показник достовірно не відрізнявся у статевонезрілих і дорослих щурів, проте суттєво достовірно був більшим у старих тварин, у порівнянні із дорослими.

При порівнянні даного показника між тваринами контрольної і дослідної груп однакового віку встановлено, що *сумарна площа пластинчастих тілець у 1 альвеолоциті II типу* достовірно не відрізнялася серед статевонезрілих та дорослих тварин, проте серед старих тварин даний показник був суттєво достовірно вищим у тварин дослідної групи (рис. 5.16).

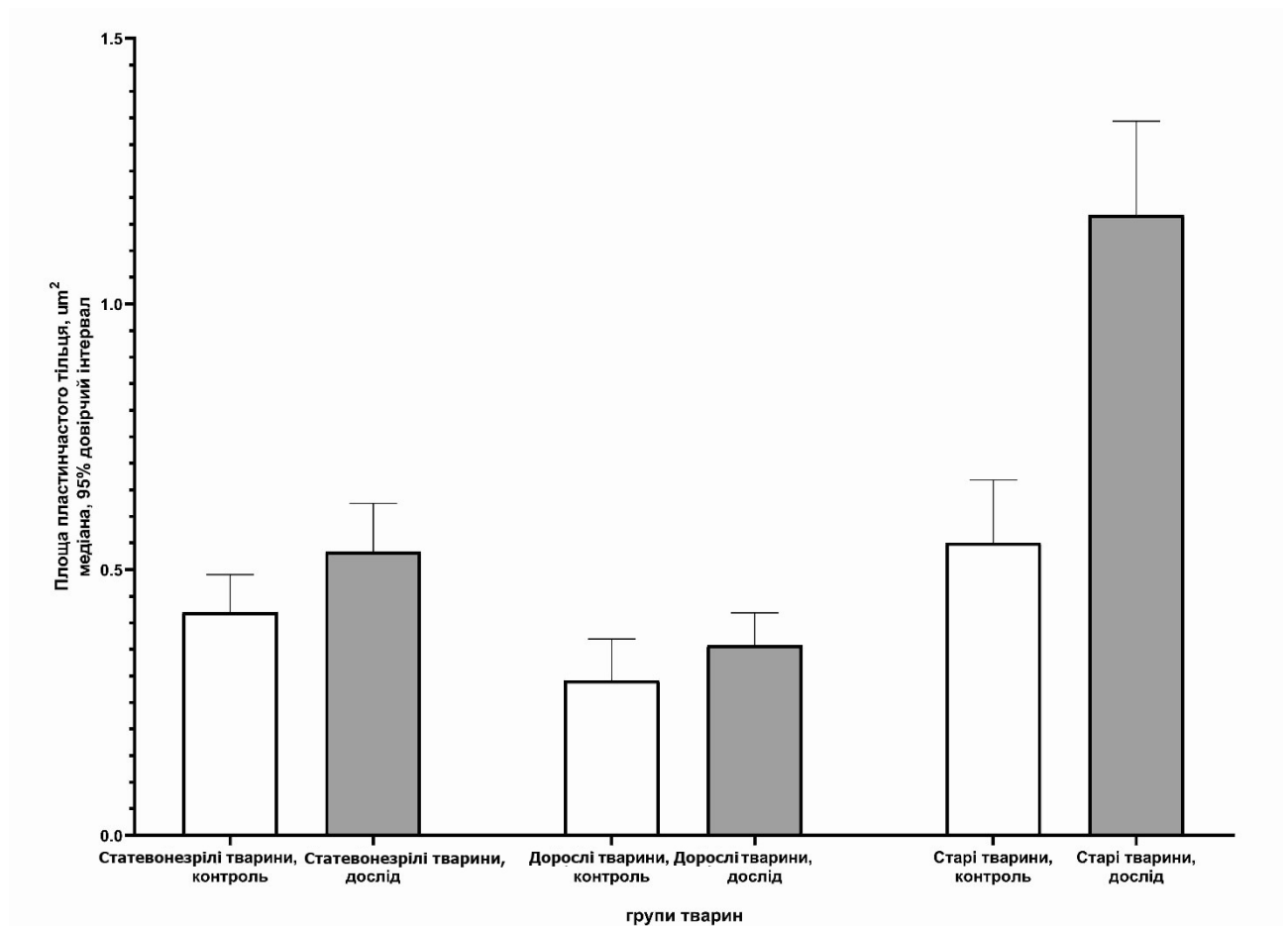


Рис. 5.16. Показник сумарної площі пластинчастих тілець у 1 альвеолоциті II типу у тварин контрольної та дослідних груп.

Дослідження *порівняння питомої площі пластинчастих тілець у 1 альвеолоциті II типу* показало, що у тварин контрольної групи даний показник в

дорослому віці суттєво зменшувався, у порівнянні із статевонезрілими щурами та зростав у старих тварин, не повертаючись, однак, до значень даного показника у статевонезрілих тварин. Натомість, у тварин дослідної групи даний показник достовірно не відрізнявся у статевонезрілих і дорослих тварин, проте суттєво достовірно був більшим у старих тварин, у порівнянні із дорослими (рис. 5.17).

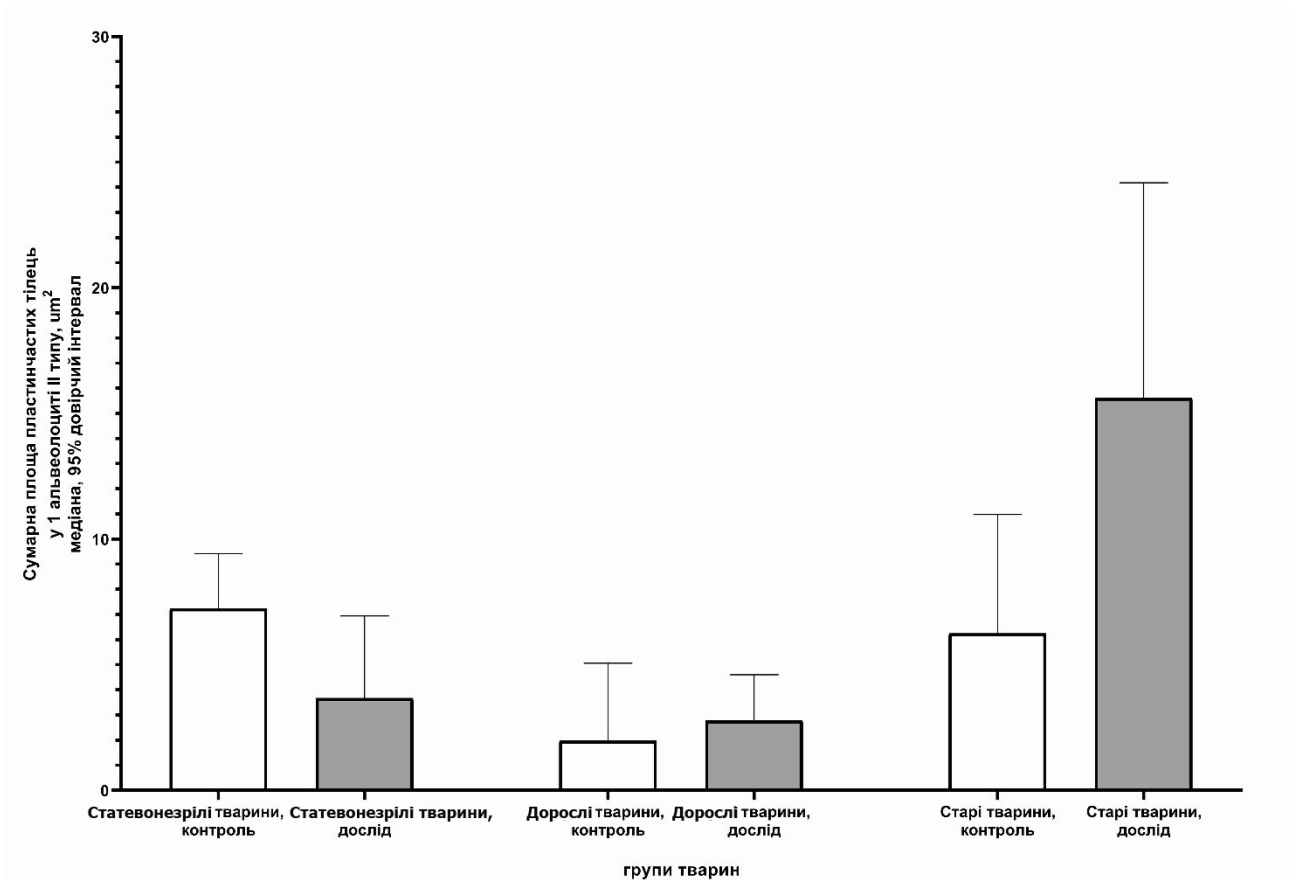


Рис. 5.17. Порівняння сумарної площі пластинчастих тілець у 1 альвеолоциті II типу у тварин контрольної та дослідних груп.

При порівнянні даного показника між тваринами контрольної і дослідної груп однакового віку встановлено, що *титом* *площа пластинчастих тілець* у 1 альвеолоциті II типу достовірно не відрізнялася серед дорослих та старих тварин, проте, серед статевонезрілих щурів даний показник був суттєво достовірно вищим у тварин контрольної групи (рис. 5.18).

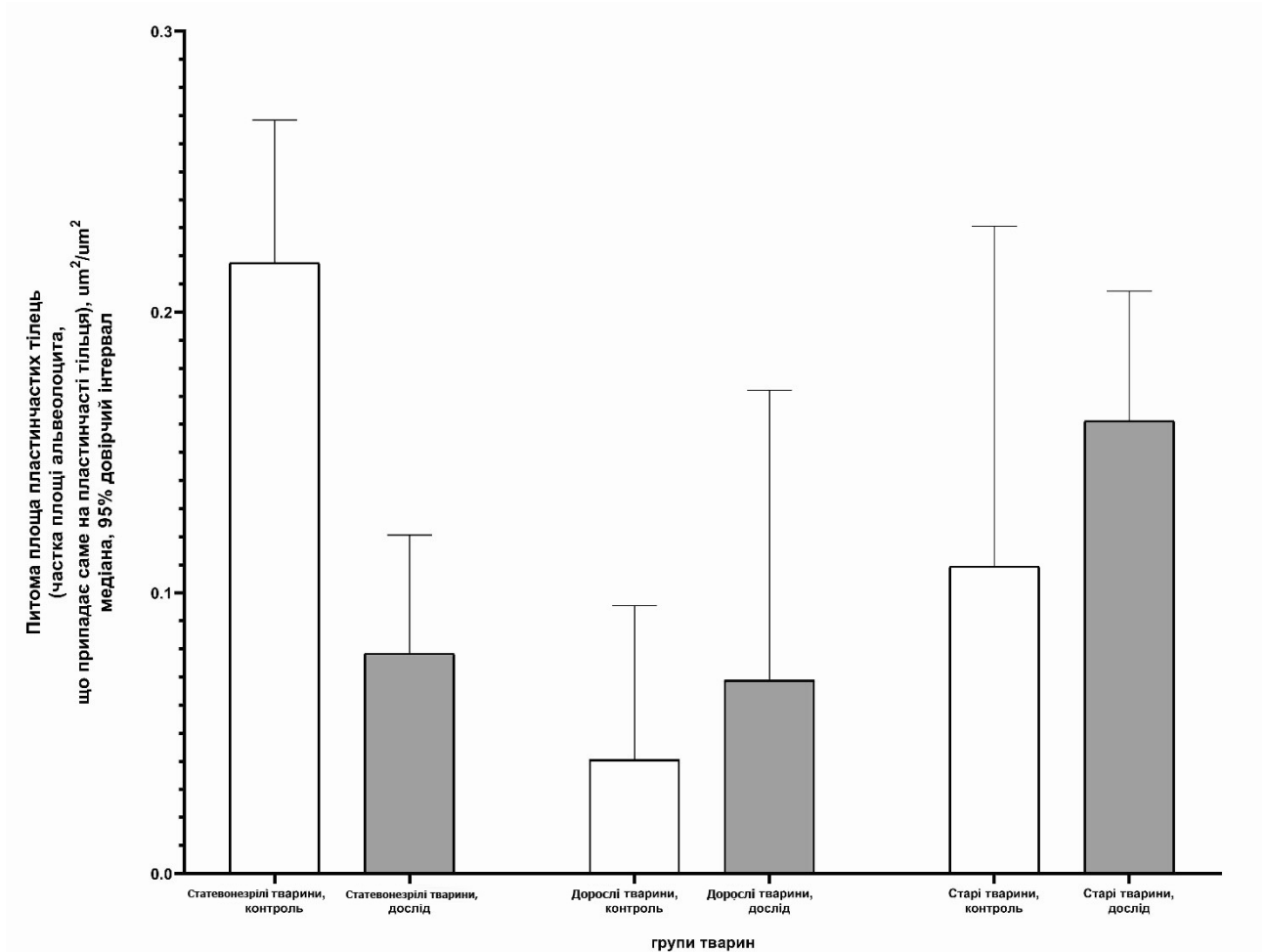


Рис. 5.18. Порівняння питомої площі пластинчастих тілець у 1 альвеолоциті II типу у тварин контрольної та дослідних груп.

Отже, за результатами морфометричного дослідження та статистичного аналізу отриманих результатів було встановлено, що *площа альвеолоцитів II типу* у статевонезрілих, дорослих та старих тварин *контрольної групи* складала $35,93 \pm 7,103 \mu\text{m}^2$ (31,16-40,70), $43,75 \pm 8,515 \mu\text{m}^2$ (38,34-49,16) та $58,56 \pm 20,29 \mu\text{m}^2$ (44,93-72,19) відповідно (Mean \pm S.D. μm^2 (95% CI)). Значення показника площі альвеолоцитів II типу у статевонезрілих, дорослих та старих тварин контрольної групи підкорялося законам нормального розподілу. При порівнянні даного показника між тваринами різного віку контрольної групи було встановлено наявність достовірної різниці ($p=0,02$). При цьому, у дорослих тварин даний показник був достовірно більше, ніж у статевонезрілих ($p=0,0225$). Також у старих щурів даний показник був достовірно більше, ніж у

дорослих тварин ($p=0,0225$), що свідчить про поступове зростання площі альвеолоцитів II типу в контрольній групі тварин в залежності від віку.

Було встановлено, що *площа альвеолоцитів II* типу у статевонезрілих, дорослих та старих тварин *дослідної групи* складала $33,76 \mu\text{m}^2$ (29,67-72,15), $43,54 \mu\text{m}^2$ (29,56-62,82) та $92,17 \mu\text{m}^2$ (48,64-163,1) відповідно (Median μm^2 (95% CI)). На відміну від тварин контрольної групи значення показника площі альвеолоцитів II типу у статевонезрілих, дорослих та старих тварин дослідної групи не підкорялося законам нормального розподілу. При порівнянні даного показника між тваринами різного віку контрольної групи було встановлено наявність достовірної різниці ($p=0,0035$). Даний показник у дорослих тварин достовірно не відрізнявся від аналогічного показника у статевонезрілих щурів ($p=0,7399$), але старі тварини мали достовірно більшу площу альвеолоцитів II типу у порівнянні із статевонезрілими та дорослими тваринами ($p=0,0070$ та $p=0,0010$ відповідно). Це також може свідчити про затримку поступового зростання площі альвеолоцитів II типу в дослідній групі тварин в залежності від віку.

При порівнянні показника площі альвеолоцитів II типу між тваринами контрольної та дослідної груп, що мали однаковий вік встановлено відсутність достовірної різниці між статевонезрілими тваринами контрольної, та дослідної груп ($p=0,1335$) і між дорослими тваринами контрольної, та дослідної груп ($p=0,6947$), проте встановлено, що старі тварини дослідної групи мали суттєво достовірно більшу площу альвеолоцитів II типу у порівнянні із старими тваринами контрольної групи ($p=0,0336$).

Було встановлено, що *кількість пластинчастих тілець всередині альвеолоцитів II* типу у статевонезрілих, дорослих та старих тварин контрольної групи складала $14,64 \pm 3,23$ шт. (12,46-16,81), $6,75 \pm 4,00$ шт. (4,20-9,29) та $10,09 \pm 3,11$ шт. (8,00-12,18) відповідно (Mean \pm S.D. шт. (95% CI)). Значення показника кількості пластинчастих тілець всередині 1 альвеолоциту II типу у статевонезрілих, дорослих та старих тварин контрольної групи підкорялося законам нормального розподілу.

При порівнянні даного показника між тваринами різного віку контрольної групи було встановлено наявність достовірної різниці ($p=0,0003$). При чому, у дорослих тварин даний показник був достовірно меншим, ніж у статевонезрілих тварин ($p<0,0001$), але у старих тварин даний показник був достовірно більше, ніж у дорослих тварин ($p=0,0047$) і меншим за такий показник у статевонезрілих ($p=0,0486$), що свідчить про поступове зменшення кількості пластинчастих тілець у дорослих тварин та наростання цього показника у старих тварин контрольної групи.

У статевонезрілих, дорослих та старих тварин дослідної групи кількість пластинчастих тілець, що приходилися на 1 альвеолоцит II типу складала $8,33\pm 4,63$ шт. (5,38-11,28), $8,45\pm 4,94$ шт. (5,13-11,78) та $13,09\pm 6,48$ шт. (8,73-17,45) відповідно (Mean \pm S.D. шт. (95% CI)). Значення показника кількості пластинчастих тілець всередині 1 альвеолоциту II типу у статевонезрілих, дорослих та старих тварин дослідної групи підкорялося законам нормального розподілу. При порівнянні даного показника між тваринами різного віку дослідної групи було встановлено відсутність достовірної різниці ($p=0,1637$). Це свідчить про стабільність даного показника у тварин різного віку дослідної групи.

При порівнянні кількості пластинчастих тілець всередині 1 альвеолоциту II типу між тваринами однакового віку, які належали до дослідної та контрольної груп встановлено, що серед статевонезрілих щурів даний показник був достовірно вищим у тварин контрольної групи, ніж у дослідній ($p=0,0041$), проте було встановлено відсутність достовірної різниці у кількості пластинчастих тілець всередині 1 альвеолоцита II типу серед дорослих та старих тварин контрольної та дослідної груп.

Площа пластинчастого тільця в альвеолоцитах II типу у статевонезрілих, дорослих та старих тварин контрольної групи складала $0,42 \mu\text{m}^2$ (0,33-0,49), $0,23 \mu\text{m}^2$ (0,22-0,37) та $0,55 \mu\text{m}^2$ (0,43-0,66) відповідно (Median μm^2 (95% CI)). Значення показника площі пластинчастого тільця в

альвеолоцитах II типу у статевонезрілих, дорослих та старих тварин контрольної групи не підкорялося законам нормального розподілу.

При порівнянні даного показника між тваринами різного віку контрольної групи було встановлено наявність достовірної різниці ($p < 0,0001$). При чому, у дорослих щурів даний показник був достовірно меншим, ніж у статевонезрілих тварин ($p = 0,0453$), але у старих щурів він був достовірно більше, ніж у дорослих тварин ($p < 0,0001$) і достовірно більшим за такий показник у статевонезрілих ($p = 0,0007$). Це свідчить про поступове зменшення кількості пластинчастих тілець у дорослих тварин та наростання цього показника у старих тварин контрольної групи.

Площа пластинчастого тільця в альвеолоцитах II типу у статевонезрілих, дорослих та старих тварин дослідної групи складала $0,53 \mu\text{m}^2$ ($0,44-0,62$), $0,35 \mu\text{m}^2$ ($0,31-0,41$) та $1,16 \mu\text{m}^2$ ($0,97-1,34$) відповідно (Median μm^2 (95% CI)). Значення показника площі пластинчастого тільця в альвеолоцитах II типу у статевонезрілих, дорослих та старих тварин дослідної групи не підкорялося законам нормального розподілу. При порівнянні даного показника між тваринами різного віку дослідної групи було встановлено наявність достовірної різниці ($p < 0,0001$). При чому, у дорослих тварин даний показник був достовірно меншим, ніж у статевонезрілих тварин ($p = 0,0006$), але у старих щурів він був достовірно більшим, ніж у дорослих тварин ($p < 0,0001$) і достовірно більшим за такий показник у статевонезрілих ($p = 0,0001$), що свідчить про поступове зменшення кількості пластинчастих тілець у дорослих тварин та наростання цього показника у старих тварин дослідної групи.

При порівнянні *площі пластинчастого тільця в альвеолоцитах II типу* між тваринами однакового віку, які належали до дослідної та контрольної груп встановлено, що серед статевонезрілих тварин даний показник був достовірно вищим у представників дослідної групи, ніж у контрольної ($p = 0,0029$), проте було встановлено відсутність достовірної різниці у площі пластинчастого тільця серед дорослих тварин ($p = 0,0546$). Виявлено, що даний показник був достовірно більшим у старих тварин дослідної групи ($p < 0,0001$). Вказані

значення даного показника свідчить про однонаправленість змін як у тварин контрольної, так і дослідної груп.

Підсумовуючи отримані результати проведеного дослідження варто зазначити, що у статевонезрілих тварин, перш за все, зміни відбуваються у аерогематичному бар'єрі. Вони пов'язані з ендотеліальною дисфункцією, яка в свою чергу обумовлена локальною десквамацією ендотеліоцитів, змінами у структурі базальних мембран, їх розпушуванням, у результаті порушення їх пошаровості та обтурації просвітів капілярів форменими елементами крові. Ушкодження цілісності ендотеліального вистелення призводить до просякнення плазми, фібрину і формених елементів крові у просвіт альвеол. По-друге, процес супроводжується набряком респіраторного епітелію, що є результатом підвищення проникності стінки судин та зростанням внутрішньокапілярного тиску.

На противагу статевонезрілим тваринам, у яких, очевидно, зміни були пов'язані, у більшій мірі, з реактивними процесами, у дорослих щурів відмічалось значне звуження просвіту альвеол. В останніх практично не виявлялись трансудати і фібринові волокна у просвітах альвеол, разом з тим тут спостерігалась підвищена активність макрофагів, які визначались як у стінці альвеол, так і у їх просвіті.

Збільшення кількості макрофагів свідчило про активацію гуморальної ланки імунітету, що обумовлена накопиченням клітинного детриту у просвіті альвеол, пов'язаного з деструкцією епітеліального вистелення альвеол та самих макрофагів. У частини кровоносних капілярів просвіт був сплющений, інші ендотеліальні клітини мали добре збережені органели метаболічного плану, особливо гранулярну ЕПС. Активність останніх на тлі формування аутофагосом, очевидно, може свідчити про деградацію білків з подальшим розвитком запальних процесів, що індукують аутоімунну відповідь у дорослих тварин за умов ГГц. Підтвердженням цього є велика кількість макрофагів та плазмоцитів у альвеолах та міжальвеолярних перегородках.

Для старих тварин характерні прояви пневмосклерозу, що визначались збільшенням кількості фібробластів і відповідно колагенових волокон. На тлі запальних процесів це, в свою чергу, приводить до спадіння просвітів альвеол та капілярів. У результаті проведеного дослідження, можна зазначити, що у старих тварин Гц викликав фіброз, та ускладнював трофіку і газообмін. Накопичення Гц у старих тварин спричиняло розвиток токсичної дії з ознаками апоптозу ендотеліоцитів та некрозу елементів респіраторного відділу легень.

Результати досліджень даного розділу дисертації відображені нами в одній статті у фаховому науковому журналі України [184], що входить до переліку міжнародної наукометричної бази Web of Science, одній статті у фаховому міжнародному виданні (Італія) [183], що входить до переліку міжнародної наукометричної бази Scopus та двох тезах науково-практичних конференцій з міжнародною участю [61, 62].

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

На сьогоднішній день підтверджена роль ГГц у розвитку клітинної дисфункції всіх органів і систем організму, що зумовлене збільшенням виробництва АФК та зменшенням синтезу NO. Зниження рівня NO в умовах ГГц також може бути спричинене інгібуванням ферменту диметиларгініндиметиламіногідролази. Індуковане ГГц пошкодження мітохондріальної ДНК призводить до дисфункції цих органел та посилює біоенергетичні процеси в них, що призводить до появи замкненого кола та посилення ознак ОС. Крім того, Гц активує NF- κ B та систему згортання крові, продукує молекули адгезії, цитокіни і хемокіни [175].

Експериментальні дослідження також виявили, що ГГц викликає апоптоз альвеолоцитів II типу внаслідок розвитку в них ОС [79, 143].

Серед проявів ендогенної інтоксикації провідну роль відіграє підвищення рівня низькомолекулярних речовин (НМР), що служить маркером цього стану [127]. Хімічна природа НМР повністю не встановлена, але передбачається, що фракція НМР неоднорідна і складається з речовин з молекулярною масою до 5000 Да. Більшість цих молекул типові для нормального метаболізму і можуть бути виявлені при мінімальних концентраціях в фізіологічних умовах. Ситуація різко змінюється в разі метаболічних розладів, пов'язаних з порушенням окисного балансу, станом запалення і / або посиленням протеолізу. Підвищення концентрації метаболітів вище фізіологічного діапазону потенційно небезпечно для клітин, оскільки впливає на біохімічні процеси і призводить до порушення гомеостазу.

Щоб з'ясувати, чи супроводжується ГГц розвитком ендогенної інтоксикації різних органів, ми, в координації з іншими дослідниками, оцінювали рівень НМР. Щоб забезпечити більш повну оцінку НМР, вимірювання проводилися на довжинах хвиль 254 нм і 280 нм. Рівень НМР, зареєстрований при 254 нм, розглядався як інтегральний параметр, що

відображає присутність неароматичних сірковмісних молекул, а також пуринових основ і деяких нуклеотидів. Навпаки, вимір при 280 нм використовувався для виявлення ароматичних з'єднань [206].

Спостерігалось помітне підвищення рівня НМР в органах щурів з ГГц. Так, наприклад, рівень НМР, зареєстрованих на довжині хвилі 254 нм, в щитоподібній залозі був збільшений в 2,7 рази у статевонезрілих щурів з ГГц, в порівнянні з контрольним значенням. Для дорослих і старих щурів цей показник виявився в 2 рази вище, ніж в контролі. Отримані дані можна пояснити, перш за все, посиленням катаболічних процесів в даному органі у щурів з ГГц.

Таким чином, значно підвищений рівень НМР може вказувати на стан ендогенної інтоксикації та служити несприятливим прогностичним маркером. Слід зазначити, що фізіологічний рівень НМР підвищувався з віком. Такі результати відображають вікові зміни метаболізму в різних органах щурів.

Важливим фактором у виникненні та прогресуванні ендогенної інтоксикації є запалення. Численні публікації за останні роки вказують на сильну кореляцію між ендогенної інтоксикацією і накопиченням запальних маркерів, а саме прозапальних цитокінів [75, 80]. У різних тканинах продукція цитокінів підтримується на мінімальному рівні [150, 177].

Дані паралельних з нашим досліджень свідчать про те, що патогенез ГГц пов'язаний з порушенням цитокінового профілю. Так, спостерігалось значне збільшення рівнів всіх прозапальних цитокінів в щитовидній залозі щурів з ГГц у порівнянні з відповідними контролями. У більшості випадків рівні цитокінів були більш ніж в 2 рази вище, ніж в контролі. Враховуючи пептидну природу цитокінів, підвищення рівня НМР може бути результатом накопичення цитокінів.

Цитокіни самі по собі є не тільки маркерами запалення, але і молекулами, які регулюють цей стан як позитивним, так і негативним чином. Вони можуть посилити запальну відповідь, стимулюючи імунні клітини, що ще більше посилює запалення і пошкодження тканин. Згідно з літературними даними [72,

112], цитокіни модулюють імунну відповідь, впливаючи на баланс між підтримкою самотолерантності і ініціюванням аутоімунітету. Є клінічні повідомлення про те, що певні типи цитокінів грають ключову роль в патогенезі аутоімунного захворювання щитовидної залози, через пряме пошкодження фолікулярних клітин. IL-10 діє не тільки як інгібітор запалення, але також бере участь в індукції / підтримці толерантності та запобігання аутоімунітету [92, 164, 167]. Отже, його знижений рівень поряд з підвищеним рівнем інших цитокінів можна розглядати як частину патогенетичного механізму індукції аутоімунітету в умовах ГГц.

Пептиди є невід'ємною частиною фракції НМР. Білковий гомеостаз, який включає етапи синтезу нових білків та своєчасну деградацію неправильно складених, пошкоджених або старих білків, є необхідною умовою підтримання гомеостазу організму. Будь-які порушення білкового гомеостазу потенційно можуть призвести до патологічних наслідків. З іншого боку, зміна білкового профілю в тканині може відображати прогресування захворювання. Тому детальне вивчення білкового складу тканин має певне значення для моніторингу стадії захворювання та оцінки ефективності лікування [125].

Загальна кількість пептидів, що присутні у біологічних рідинах і тканинах, розглядається як пептидний пул. Пул пептидів кожного органу є специфічним за композицією та вмістом окремих пептидів. Це обумовлено складом протеолітичних ферментів, їх регуляторів, субстратних білків, які присутні в тканині та дещо відрізняються для різних органів. Останнім часом розуміння ролі пептидних пулів як складової частини механізмів, що залучені у регуляцію та підтримку тканинного гомеостазу, значно розширилося. Відповідно до сучасних концепцій, пептидні пули здійснюють модулюючий вплив на нервову, ендокринну, імунну та серцево-судинну системи [130].

Пептиди можуть впливати на швидкість біохімічних процесів і визначати напрямок метаболічних перетворень. Пептидні пули формуються або з білків-попередників у результаті їх процесингу, або є проміжними продуктами деградації тканинних білків. Тому як склад пептидів, так і рівень окремих

пептидів частково визначаються швидкістю протеолізу. Вважається, що захворювання, пов'язані зі зростанням активності протеолітичних ферментів, супроводжуються зміною у пептидних пулах органів. Більше того, зміни якісного та кількісного складу пептидів є не лише наслідком метаболічних порушень, а й можуть також призвести до подальших ускладнень під час патологічного процесу.

Серед факторів, що сприяють накопиченню НМР, особливо пептидної природи, лежить протеолітичний дисбаланс. Більш того, пошкодження тканин при запальних захворюваннях часто пов'язано з гіперактивацією протеаз.

А. V. Ovechkin та ін. [166] у експерименті, пов'язаному зі створенням моделі хронічної ГГц у щурів, продемонстрував, що при підвищенні вмісту Гц розвивається фіброз печінки і, відповідно, збільшується експресія ММР у цьому органі. Загалом, ММР є основним джерелом руйнування рубцевої тканини, що сприяє запобіганню розвитку фіброзу печінки.

ГГц впливає на протеолітичний баланс у печінці. Це проявляється збільшенням загальної протеолітичної активності, активності металозалежних та серинових протеаз. Збільшення загальної протеолітичної активності в печінці щурів може бути одним із механізмів прогресування порушень, пов'язаних з ГГц, не тільки в печінці, а й в інших тканинах та органах. Печінка може відігравати важливу роль у спричинених ГГц розладах гемостазу через зміну функціональної активності факторів згортання, які, як правило, є сериновими протеазами. Серед наслідків деградації серинових протеаз, включаючи фактори гемостазу, є поява молекул, які втратили біологічну активність і не можуть реалізувати властиві їм функції. У той же час деякі з цих змінених молекул можуть проявляти ферментативну активність завдяки збереженню активного центру [97]. Однак через порушення їх самородної структури вони можуть уникнути гальмування канонічними інгібіторами. З цих причин утворення та накопичення деградованих серинових протеаз у печінці щурів при ГГц, як видається, є одним з молекулярних механізмів, що лежать в основі прогресування захворювання і розвитку серйозних ускладнень.

Отримані дані відображають участь MMP у розвитку протеолітичного дисбалансу в печінці. Надмірна або неадекватна активація MMP створює протеолітичне середовище для деградації клітинних білків. У цьому випадку передбачається, що MMP можуть виконувати неканонічні функції, такі як активація інших ферментів, включаючи серинові протеази. Це припущення частково узгоджується із збільшенням активності серинових протеаз у печінці щурів при ГГц.

Стан ГГц супроводжувався протеолітичним дисбалансом, який проявлявся у збільшенні загальної протеолітичної активності, активності серинових протеаз і особливо активності металозалежних ферментів. Збільшення рівня MMP-1, MMP-2 та MMP-3 свідчить про участь цих ферментів у посиленні протеолізу, опосередкованого металозалежними ферментами. Незважаючи на значне збільшення вмісту серинових протеаз, їх активність суттєво не зросла. Це може бути пов'язано з протеолітичною деградацією серинових протеаз, що підтверджується змінами в якісному складі серинових протеаз. Виявлено накопичення низькомолекулярних білків та зменшення частки білків з молекулярною масою понад 50 кДа у фракції серинових протеаз. Наведені результати дають додаткове розуміння механізмів, що беруть участь у патогенезі ГГц. Ці спостереження вказують на те, що порушення протеолізу може бути важливою детермінантою розвитку порушень у печінці.

Вищевказані зміни у печінці співпадають із процесами, що спостерігаються у серці експериментальних тварин на тлі ГГц.

Результати досліджень показують збільшення протеолітичної активності (зокрема, значного відсотка металозалежних ферментів) у щурів усіх досліджуваних груп. Сімейство MMP включає ряд цинквмісних ендопротеїназ з різною субстратною специфічністю. З метою отримання всебічної оцінки участі MMP у патогенезі ГГц досліджували рівень MMP, що належать до різних груп ферментів. Увага дослідників була зосереджена на колагеназах (MMP -1, -8), які розкладають фібрилярний колаген типів I, II та III; желатинази (MMP -2, -9) завдяки здатності розкласти колаген IV типу в базальних мембранах та

стромелізину (ММР-3, -10), які активні щодо широкого спектру компонентів позаклітинного матриксу, включаючи протеоглікани, ламініни, фібронектин, вітронектин [85].

Результати дослідження показали збільшення рівня всіх досліджених ММР у серці молодих щурів. Аналіз рівнів ММР у зрілих щурів виявив менш виражену зміну цього параметра. Найбільш суттєві зміни рівнів ММР у групі старих щурів виявлені для ММР-8. Синтез та деградація колагену є строго збалансованим процесом, отже, збільшення рівня або активності ММР у щурів з ГГц може негативно вплинути на метаболізм колагену. Враховуючи, що більша частина колагенових волокон міокарда складається з колагену I та III типів, підвищення рівня ММР-1 та ММР-8 може бути однією з причин структурних та функціональних змін серця при ГГц. Ситуація загострюється у випадку зі старими тваринами, для яких зменшення вироблення колагену є фізіологічним процесом. Беручи до уваги роль ММР у розвитку серцево-судинних захворювань, дані результати можна розглядати як поганий прогностичний критерій для хворих на ГГц.

Було встановлено, що пряма активація ММР-2 за високих концентрацій Гц у крові може бути однією із перших подій у руйнуванні артеріальних еластичних структур і розвитку подальших патологічних змін [189].

Також при ГГц спостерігається підвищення експресії ММР-2, ММР-9 у судинах головного мозку. В результаті цього локально експресуючі ММР можуть руйнувати позаклітинний матрикс, викликати апоптоз гладком'язевих клітин, що послаблює судинну стінку і призводить до розвитку аневризму головного мозку [218]. Велике значення в цьому процесі може мати зниження біодоступності NO. У нормі NO зв'язується зі сайтом активації цих ферментів і сприяє підтримання їх в латентному, неактивному стані. Перетворення NO в ONOO⁻ під дією O²⁻ призводить до руйнування зв'язку між тканинним інгібітором металопротеїназ та ферментом і активацією протеїнази. Певне значення для активації ММР може грати також окислення залишків цистеїну АФК і нітрація тирозину пероксінітриа. ГГц викликає порушення ГЕБ.

Останні дослідження вказують на можливий вплив підвищеного вмісту Гц на ММР-9, в результаті чого спостерігається дисбаланс між активністю ММР-9 та ТІМР-4, тобто збільшується активність ММР-9 та знижується активність ТІМР-4, що призводить до руйнування ГЕБ [208]. Також було показано, що підвищення вмісту Гц в організмі щурів індукує вивільнення ММР-9 із ендотеліальних клітин мікросудин головного мозку. Це може бути причиною когнітивних порушень, викликаних Гц, адже збільшення ММР-9 призводить до деградації щільних контактів та крововиливу [189].

Результати нашого дослідження повністю підтверджують дані інших досліджень щодо впливу ГГц на різні органи та системи організму.

Так, вміст загального білка у легенях статевонезрілих щурів був майже вдвічі нижчим у порівнянні з відповідним показником у групі контрольних тварин. Це може бути зумовлено посиленням процесів протеолізу і свідчити про розвиток протеолітичного дисбалансу у прогресуванні патологічних процесів в даному органі. При цьому, за нашими даними, загальний рівень білка в легенях інтактних тварин не змінювався з віком. Таким чином, можна припустити, що у легенях щурів старіння супроводжується перерозподілом білків різної молекулярної маси.

Також нами виявлено підвищення рівня пептидів у легенях усіх дослідних груп, а найбільш виражені зміни рівня пептидів спостерігались у групі дорослих щурів, що, на наш погляд, можна пояснити, як і в інших органах при ГГц, насамперед активацією канонічних протеолітичних ферментів.

Отримані в ході нашого дослідження дані показали збільшення загальної протеолітичної активності у легенях щурів усіх досліджуваних груп за умов розвитку ГГц. Зокрема, спостерігались зростання вмісту усіх досліджуваних ММР в незалежності від вікової групи. За гіперактивацію протеолітичних процесів в тканині легень говорить підвищення вмісту ММР-1, 2, 3, 8 та 10.

При аналізі кількісного та якісного складу білкової фракції тканини легень спостерігався чіткий перерозподіл фракцій у бік збільшення

низькомолекулярних компонентів, що також свідчить про надмірний протеоліз у данному органі.

Результати проведеного нами дослідження показують, що всі тварини експериментальної групи мають суттєві морфологічні зміни в структурі легень. Попередні дані біохімічних досліджень показують, що існує пряма кореляція між рівнем Гц у плазмі крові та ураженням легеневої тканини. При вивченні отриманих даних було встановлено, що у групі експериментальних тварин кожна вікова категорія мала свої особливості морфологічних змін у структурі легень.

Проведене нами гістологічне дослідження легень статевонезрілих щурів за умов ГГц встановило початкові деструктивні зміни судин, бронхів, компонентів респіраторного відділу. Гемодинамічні розлади і посилення судинної проникності призвели до периваскулярного, перибронхіального, інтерстиційного, внутрішньоальвеолярного набряку, гістолейкоцитарної інфільтрації. У тканині респіраторного відділу серед ділянок незміненої гістоструктури органу виявлялися невеликі зони дис- та ателектазів, емфізематозного розширення. Виявлені зміни зворотні та мають пристосувально-компенсаторний характер.

У дорослих тварин за умов ГГц встановлено пристосувально-компенсаторні та деструктивні зміни компонентів органу. Ремоделювання стінок судин, особливо мікроциркуляторного русла, призводило до порушення кровопостачання органу та гіпоперфузії тканини легень. В респіраторному відділі легень виявлено значні площі дис- та ателектазів, ділянки паренхіми були емфізематозно змінені. В альвеолярних перегородках, перибронхіально та паравазально визначалися гісто- та лейкоцитарна інфільтрація, формування запальних конгломератів.

У експериментальних тварин старого віку на тлі ГГц нами встановлені значні запальні, деструктивні зміни. Прояви запального характеру судинної стінки визначалися лейкоцитарною інфільтрацією всієї товщі, в найбільшій мірі адвентиції. Зміни в бронхах характеризувалися ремоделюванням усіх оболонок

стінки, деформація бронхів відбувалась як за рахунок атрофії, гіпертрофії м'язової пластинки, так і за рахунок запальних і склеротичних змін. Слід відзначити характерний для цього віку щурів розвиток склерозу судин, бронхів, респіраторного відділу, а саме: збільшення вмісту волокнистих компонентів в стінці бронхів, особливо адвентиційній оболонці, що призводило до перибронхіального склерозу; активна проліферація фібробластів і розростання ретикулярних та, в більшій мірі, колагенових волокон.

Отримані дані узгоджуються з результатами інших наукових робіт. Так, у більшості пацієнтів із ХОЗЛ спостерігається підвищення рівня Гц в плазмі. Причиною такого стану є дефіцит вітаміну В₁₂, який спричиняє порушення синтезу та утилізації Гц в організмі. За цих умов існує основа для розвитку атеротромботичних ускладнень та ризику серцево-судинної патології [110]. Дані подібних досліджень також підтверджують роль Гц у виникненні та прогресуванні ХОЗЛ. Збільшення його концентрації у пацієнтів пов'язане із запальним процесом та розвитком ОС [70]. N. A. Khan та ін. [134] встановили, що у людей із ХОЗЛ спостерігається порушення метаболізму фолатів, що є основою для підвищення концентрації Гц в цих умовах. При цій патології амінокислота має виражену дію на стінки бронхів і судин, а призначення вітаміну В₉ пацієнтам лише знижує його рівень у крові, але не здатне поліпшити функціональні параметри дихальної системи.

При дослідженні паренхіми легень статевонезрілих тварин в умовах ГГц на ультраструктурному рівні нами спостерігалось значне витончення цитоплазми клітин, що призвело до зменшення кількості органел на метаболічному рівні, зокрема, мітохондрії втратили кристали та набрякли. Наші результати узгоджуються з даними Медведєва Д. В. та ін. [37] дослідженнями щодо метаболічних змін у мітохондріях клітин легень з експериментальною ГГц у щурів. В умовах важкої ГГц він накопичується в мітохондріях, що проявляється безпосередньою токсичною дією на дані органели. Цей факт може бути обумовлений наявністю на внутрішній мембрані мітохондрій спеціального транспортера SAM, який переносить останній в матрикс органел. Значне

накопичення Гц в органелі призводить до розвитку ОС внаслідок дефіциту NO та окисної модифікації білків. Дисфункція мітохондрій спричиняє апоптоз клітин та пошкодження легеневої тканини.

Між респіраторними епітеліоцитами виявлялися секреторні клітини (пневмоцити II), які виробляють сурфактант. За даними, що отримані нами в ході дослідження, кількість клітинних пластинок, які містяться у сурфактанті (мембрана та рідка фаза відповідно: фосфоліпіди, білки та глікопротеїни) було вдвічі меншим, ніж у щурів контрольної групи (експериментальні тварини – 0,2 на 1 мкм; контрольні тварини – 0,4 в 1 мкм). Вище викладені факти про пошкодження аеро-гематичного бар'єру в умовах ГГц описані нами вперше, даних про це в науковій літературі немає.

Просвіт капілярів, як правило, був заповнений клітинами крові (еритроцитами, макрофагами, лімфоцитами, нейтрофілами). Збільшення вмісту утворених елементів та трансудату в альвеолах призводило до зменшення просвіту в деяких капілярах. Вищезазначені результати нашої роботи збігаються з дослідженнями Вороніної Л. П. [13] за суттю: визначаються суттєві зміни судинного епітелію у хворих на БА в умовах ГГц, тоді як тяжкість дисфункції ендотелію сильно корелює з рівнем Гц в плазмі крові.

Дані, отримані в результаті експериментального дослідження, підтверджують вже існуючі результати, проведені з метою встановлення ролі Гц у пошкодженні легень. ГГц, що розвивається внаслідок дефіциту CBS, призводить до розвитку тромбозу легеневої артерії, що характеризується наявністю фіброзу легеневої тканини та руйнуванням аерогематичного бар'єру. Зміни супроводжуються підвищеною експресією колагену I типу та TGF β [115].

Електронно-мікроскопічне дослідження дихальної частини легень дорослих тварин показало, що порівняно з статевонезрілими щурами в альвеолах накопичення клітинного детриту спостерігалось меншою мірою. При цьому у просвіті альвеол була збільшена кількість макрофагів, порівняно з контрольними та статевонезрілими тваринами, в цитоплазмі яких були зосереджені фагосоми та аутофагосоми. Наявність останніх та активація

гранулярного ендоплазматичного ретикулула в умовах ГГц свідчать про деградацію білка, посилення запальних процесів, що, в свою чергу, індукує аутоімунну відповідь, підтвердженням якої є збільшення кількості макрофагів. Ці результати підтверджують дослідження Da Cunha A. A. та співавторів [100], які виявили, що ГГц характеризується активацією ПОЛ, білків, розвитком ОС, стресом ендоплазматичної сітки та пошкодженням легеневої тканини.

Особливостями дорослих тварин в умовах ГГц були звуження альвеолярного простору частини альвеол та збільшення кількості макрофагів, часткова десквамація ендотеліальної оболонки капілярів та незначне збільшення колагенових волокон у міжальвеолярних мембранах, порівняно з статевонезрілими та контрольними тваринами.

Старі тварини суттєво відрізнялись між собою зростанням кількості пухкої волокнистої сполучної тканини, зокрема, колагенових волокон та фібробластів, які їх продукують. Це призводило до колапсу в просвіті судин і, відповідно, порушення трофіки дихальної частини легень, що підтверджується наявністю в просвітах фрагментів альвеол макрофагів, сформованих елементів крові, підвищеним вмістом фібрину та білків високої електронної щільності, подібних до плазми крові. Отримані нами результати підтверджують дослідження Steed M. M. та співавт. [199], які в експериментах на щурах також продемонстрували значне переважання колагенових волокон над еластичними в стінках судин та альвеолах легень за умов ГГц.

В деяких капілярах ендотеліальні клітини зазнавали апоптотичних змін, які проявлялися округленням клітин, збільшенням розміру, зменшенням кількості органел, що відповідають за метаболізм. Також спостерігали відсутність мікропіноцитозних бульбашок, які відповідають за трансендотеліальний перенос речовин, та ядра пікнозу з подальшим утворенням залишкових тілець. Як правило, апоптоз характерний для тих судин, які мають скупчення білків плазми і тромбоцитів у просвіті. Хі Н. та ін. [216] в експериментах на щурах також виявили, що ГГц активує апоптоз епітеліальних клітин судинної стінки.

Підводячи підсумок усієї роботи слід підкреслити, що проведені дослідження суттєво розширюють та поглиблюють розуміння виникнення патологічних процесів за умов ГГц у легенях щурів різного віку.

Згідно отриманих нами біохімічних даних, на фоні хронічної ГГц відбувається накопичення в гомогенатах тканини легень не- та ароматичних сполук, пептидів і інших НМР, що є доказом розвитку ендогенної інтоксикації. Збільшення загальної протеолітичної активності, накопичення білків з низькою молекулярною масою та зниження рівня високомолекулярних білків, суперекспресія ММР маніфестує активацію протеолізу.

Варто зазначити, що різні за віком тварини по різному реагують на ГГц. За цих умов найбільші зміни структури легень у статевонезрілих щурів відбуваються на рівні аерогематичного бар'єру, з віком спостерігається формування аутофагосом, підвищення активності плазмоцитів та макрофагів, звуження просвіту альвеол, ознаки запалення; тоді як у старих щурів відмічаються ускладнення трофіки тканини легень, наявні ознаки фіброзу та пневмосклерозу. Дані морфометричного дослідження повністю підтверджують вказані особливості змін цитоархітектоніки легень щурів за умов ГГц.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі подано теоретичне узагальнення та нове вирішення науково-практичного завдання щодо встановлення гістологічних, ультраструктурних та біохімічних змін структури легень щурів залежно від віку та за умов підвищеного рівня гомоцистеїну.

1. При гістологічному та електронно-мікроскопічному дослідженні легень інтактних щурів різних вікових встановлено, що у респіраторному відділі легень *статевонезрілих щурів* частина міжальвеолярних перегородок потовщені, інтенсивно розвинені судини гемомікроциркуляторного відділу. У *дорослих* тварин в стінці великого та середнього діаметру артерій відбувається розростання еластичних волокон.

Характерною особливістю вікової інволюції легень *старих щурів* є зміна реологічних властивостей слизу та поступової атрофії секреторних відділів слизових залоз бронхів. Стінка бронхів стоншується, відбувається поступова атрофія оболонок, епітелій десквамується в просвіт. Спостерігається відносна атрофія еластичних волокон та заміщення ретикулярними/колагеновими волокнами, що супроводжується потовщенням та ущільненням міжальвеолярних перегородок, втратою пружності та еластичності стінок судин. Віковою особливістю легень старих тварин є часткова редукція альвеол і міжальвеолярних перегородок, із формуванням емфізематозно розширених альвеол.

2. При гістологічному дослідженні легень *статевонезрілих щурів* за умов гіпергомоцистеїнемії встановлені помірні деструктивні зміни судин, бронхів, компонентів респіраторного відділу, що спостерігаються на тлі набряків та гістолейкоцитарної інфільтрації; виявляються невеликі зони дис- та етелектазів, емфізематозного розширення. Виявлені зміни зворотні та мають пристосувально-компенсаторний характер.

У *дорослих щурів* за умов гіпергомоцистеїнемії встановлено пристосувально-компенсаторні та деструктивні зміни компонентів органу: значні площі дис- та

ателектазів, емфізематозно змінені ділянки паренхіми; перибронхіально та паравазально визначаються формування запальних конгломератів, гісто- та лейкоцитарна інфільтрація.

У тварин старого віку розвиваються найбільш значні деструктивно-дегенеративні зміни, спостерігаються порушення стінок альвеол з виходом формених елементів крові в альвеолярний простір та утворення дрібних діapedезних крововиливів. Активація фібробластів проявляється вираженим колагеноутворенням, яке зумовлює периваскулярний, перибронхіальний та інтерстиційний склероз, що чинить значний негативний вплив на процес газообміну в легенях.

3. При електронно-мікроскопічному дослідженні структурні зміни легень у *статевонезрілих щурів* на тлі гіпергомоцистеїнемії відбуваються в аерогематичному бар'єрі, які супроводжуються набряком респіраторного епітелію, що пов'язано з реактивними процесами в органі. У *дорослих тварин* відмічається значне звуження просвіту альвеол, формування аутофагосом (деградація білків з подальшим розвитком запальних процесів, індукуючих аутоімунну відповідь), спостерігається підвищена активність макрофагів та плазмоцитів (активація гуморальної ланки імунітету). Для *старих тварин* характерні прояви пневмосклерозу, фіброзу, ускладнення трофіки та газообміну. Чітко спостерігається токсичний ефект накопичення гомоцистеїну з ознаками апоптозу ендотеліоцитів та некрозу у респіраторному відділі легень.

4. Морфометричний аналіз ультраструктурних змін легень щурів різного віку та на тлі гіпергомоцистеїнемії показав прогресивне зростання площі альвеолоцитів II типу як у статевонезрілих, дорослих і старих тварин контрольної, так і у тварин дослідної груп, із більш вираженими змінами у дослідній групі ($35,93 \pm 7,103 \mu\text{m}^2$; $43,75 \pm 8,515 \mu\text{m}^2$; $58,56 \pm 20,29 \mu\text{m}^2$ – контрольна група, та $33,76 \mu\text{m}^2$; $43,54 \mu\text{m}^2$; $92,17 \mu\text{m}^2$ – дослідна група відповідно).

У щурів контрольної групи динаміка показників кількості пластинчастих тілець у 1 альвеолоциті II типу ($14,64 \pm 3,23$ шт., $6,75 \pm 4,00$ шт.; $10,09 \pm 3,11$ шт. відповідно), площі пластинчастого тільця ($0,42 \mu\text{m}^2$, $0,23 \mu\text{m}^2$; $0,55 \mu\text{m}^2$ відповідно),

сумарної площі пластинчастих тілець у 1 альвеолоциті II типу ($6,79 \pm 2,49 \mu\text{m}^2$; $2,53 \pm 1,94 \mu\text{m}^2$; $6,92 \pm 3,25 \mu\text{m}^2$ відповідно), питомої площі пластинчастих тілець ($0,19 \pm 0,07 \text{um}^2/\text{um}^2$; $0,06 \pm 0,05 \text{um}^2/\text{um}^2$; $0,12 \pm 0,06 \text{um}^2/\text{um}^2$) має однонаправлений характер та полягає у зменшенні відповідних показників у дорослих тварин та подальшому зростанні цих показників у старих тварин. Динаміка відповідних показників у тварин дослідної групи також має однонаправлений характер і полягає у стабільності даного показника у статевонезрілих та дорослих тварин із подальшим ростом даних показників у старих тварин. При чому, вказані показники найбільш високі у старих тварин дослідної групи.

5. При біохімічному дослідженні структури легень щурів різного віку вміст загального білка у даному органі у статевонезрілих щурів при гіпергомоцистеїнемії майже вдвічі нижчий у порівнянні з відповідним показником у групі контрольних тварин ($15,7 \pm 0,6 \text{ мг/г}$ та $32,4 \pm 1,5 \text{ мг/г}$ відповідно), при чому, загальний рівень білка в легенях інтактних тварин не змінюється з віком ($32,4 \pm 1,5 \text{ мг/г}$, $34,1 \pm 1,6 \text{ мг/г}$, $30,5 \pm 1,1 \text{ мг/г}$). У легенях щурів старіння супроводжується перерозподілом білків різної молекулярної маси: відсоток білків з молекулярною масою 70-100 кДа становив 3,8%, 16,9% та 17,3% для контрольних тварин; водночас рівень білків з молекулярною масою менше 30 кДа зменшується з віком і становить 56,5%, 43,2% та 36,1%.

За умов гіпергомоцистеїнемії у статевонезрілих щурів, а також дорослих щурів та тварин старого віку спостерігаються: накопичення низькомолекулярних речовин різної природи, зокрема, пептидів (відповідно, $5,54 \pm 0,21$: $3,22 \pm 0,15 \text{ ум.од/г}$; $9,90 \pm 0,47$: $4,93 \pm 0,21 \text{ ум.од/г}$; $11,87 \pm 0,58$: $5,23 \pm 0,25 \text{ ум.од/г}$); активація протеолізу, у вигляді підвищення загальної протеолітичної активності (відповідно, $12,93 \pm 0,06$: $9,21 \pm 0,04 \text{ ум.од/г}$; $18,44 \pm 0,03$: $12,54 \pm 0,004 \text{ ум.од/г}$; $10,77 \pm 0,04$: $7,46 \pm 0,05 \text{ ум.од/г}$); надекспресія усіх досліджуваних матриксних металопротеїназ (відповідно, ММП-1, 2, 3, 8 та 10), що доводить зсув протеолітичних процесів в бік гіперактивації. Також в процесі старіння відмічається зміна білкового складу легень, а саме накопичення білків з молекулярною масою менше 30 одночасно із зниженням рівня високомолекулярних білків.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Акопян, Г. Р., Назарько, І. М., & Андрєєв, Є. В. (2014). Показники обміну гомоцистеїну як один із критеріїв серцево-судинного ризику у хворих на ішемічну хворобу серця. *Серце і судини*, 3, 53-58.
2. Аметов, А. С., & Косян, А. А. (2019). Роль гомоцистеїна в розвитку діабетическої поліневропатії і ендотеліальної дисфункції. *Ендокринологія: новості, мненія, обученіє*, 8 (1), 32-39.
3. Андрушко, І. І. (2008). Рівень гомоцистеїну, цистеїну та аргініну у практично здорових осіб: вікові та статеві детермінанти. *Український кардіологічний журнал*, 5, 89-95.
4. Арутюнян, А. В., Пустыгина, А. В., Милютіна, Ю. П., Залозня, І. В., & Козіна, А. С. (2015). Молекулярні маркери окислительного стресса у потомства при експериментальній гіпергомоцистеїнемії. *Молекулярна медицина*, 5, 41-46.
5. Афанасьєв, Ю. І. & Юріна, Н. А. (Ред.). (2012). *Гістологія, цитологія і ембріологія* (6-е изд.). Москва: ГЭОТАР-Медіа.
6. Ахтеміїчук, Ю. Т., Слободян, О. Н., & Лаврив, Л. П. (2014). Пренатальне розвитіє органів і структур організма. *Експериментальна і клінічєская медицина*, 3 (64), 18-21.
7. Багрій, М. М., Діброва, В. А., Попадінець, О. Г. & Грищук, М. І. (Ред.). (2016). *Методики морфологічних досліджень*. Вінниця: Нова Книга.
8. Белая, О. Л., Бондар, К. Ю., Маркова, Л. І., Куроптева, З. В., Байдер, Л. М., Михайлова, І. С., ... Кузнецова, Ю. В. (2017). Гендерніє различія гомоцистеїнемії і єї впливієніє на параметри окислительного стресса і функцію ендотелієя у больних стабільними формами ішемічєской болєзни серця. *Клінічєская медицина*, 95 (8), 705-712.
9. Быков, В. Л. (2011). *Цитологія і обіаая гістологія (функціональня морфологія кліток і тканей чєловека)*. Санкт-Петербург: СОТІС.

10. Бурденный, А. М., Логинов, В. И., Заварыкина, Т. М., Брага, Э. А., & Кубатиев, А. А. (2017). Молекулярно-генетические нарушения генов фолатного и гомоцистеинового обмена в патогенезе ряда многофакторных заболеваний. *Генетика*, 53 (5), 526-540.
11. Бучинская, Н. В., Исупова, Е. А., & Костик, М. М. (2019). Гомоцистинурия: литературный обзор и описание клинического случая. *Вопросы современной педиатрии*, 18 (3), 187-195.
12. Волков, К. С. & Пасечко, Н. В. (2004). *Ультраструктура клітин і тканин (навчальний посібник-атлас)*. Тернопіль: Укрмедкнига.
13. Воронина, Л. П., Полунина, О. С., Севастьянова, И. В., Полунина, В. А., Фалчари, Р. А., & Полунина, И. Н. (2013). Гомоцистеин и функциональное состояние сосудистого эндотелия при бронхиальной астме. *Астраханский медицинский журнал*, 2(8), 36-39.
14. Гемонов, В. В. & Лаврова, Э. А. (2013). В Кузнецов, С. Л. (Ред.). *Гистология, цитология и эмбриология: атлас*. Москва: ГЭОТАР-Медиа.
15. Горальський, Л. П., Хомич, В. Т., & Кононський, О. І. (2011). *Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології*. Житомир: Полісся.
16. Добреля, Н. В., Бойцова, Л. В. & Данова, І. В. (2015). Правова база для проведення етичної експертизи доклінічних досліджень лікарських засобів з використанням лабораторних тварин. *Фармакологія та лікарська токсикологія*, 2, 95-100.
17. Ермоленко, Е. К. (2006). *Возрастная морфология*. Ростов: Феникс.
18. Заїчко, Н. В. (2003). Окислювальна модифікація білків сироватки крові як маркер активності ревматоїдного артриту та її зміни під впливом фармакотерапії амізоном, індометацином, німесулідом. *Вісник Вінницького національного медичного університету*, 7 (2), 664 - 666.
19. Заїчко, Н. В., Пентюк, О. О., & Карбовський, В. Л. (2007). Вплив гомоцистеїну, цистеїну та їхніх похідних на тромбоцитарну ланку системи гемостазу. *Український біохімічний журнал*, 5, 122-132.

20. Заїчко, Н. В. (2010). Вплив навантаження тіолактоном гомоцистеїну на обмін аденозину у щурів: зв'язок з гіперреактивністю тромбоцитів, корекція порушень його обміну вітамінно-мікроелементним комплексом. *Український біохімічний журнал*, 2, 59-66.
21. Заїчко, Н. В., & Артемчук, М. А. (2010). Вплив вітамінно-мікроелементного комплексу та бетаїну на стан системи гемостазу в щурів з гіповітамінотно-метіоніною гіпергомоцистеїнемією. *Медицина хімія*, 4, 72-78.
22. Заїчко, Н. В., Луцюк, М. Б., & Григор'єва, Г. О. (2012). Гіпергомоцистеїнемія: медико-соціальні та фармакологічні аспекти. *Фармацевтичний кур'єр*, 9, 30-35.
23. Зобова, Д. А., & Козлов, С. А. (2016). Роль гомоцистеина в патогенезе некоторых заболеваний. *Медицинские науки*, 3(39), 132-144.
24. Ильичева, А. С., & Фомина, М. А. (2015). Состояние окислительного карбонилирования белков мышечных тканей при выраженной гипергомоцистеинемии. *Российский медико-биологический вестник имени академика И. П. Павлова*, 1, 45-51.
25. Ильичова, А. С., Фомина, М. А., & Медведев, Д. В. (2014). Характеристика продуктов окислительного повреждения белков миокарда на фоне гипергомоцистеинемии. *Наука молодых*, 4, 37-43.
26. Каркищенко, Н. Н., & Грачев, С. В. (2010). *Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских технологиях*. М.: Профиль.
27. Келина, Н. Ю., Безручко, Н. В., & Рубцов, Г. К. (2012). Биохимические проявления эндотоксикоза: методические аспекты изучения и оценки, прогностическая значимость (аналитический обзор). *Вестник Тюменского государственного университета*, 6, 143-147.
28. Коржевский, Д. Э., & Гиляров, А. В. (2010). *Основы гистологической техники*. СПб: СпецЛит.
29. Коробейникова, Э. Н. (1989). Модификация определения продуктов ПОЛ в реакции с тиобарбитуровой кислотой. *Лабораторное дело*, 7, 8-10.

30. Корост, Я. В. (2018). Гіпергомоцистеїнемія: маркер дефіциту вітамінів групи В і незалежний фактор ризику розвитку серцево-судинних захворювань. *Ліки України*, 1 (217), 33-36.
31. Корчинська, О. О., Ростока, Л. М., Лях, О. І., Сіткар, А. Д., Лях, В. І., Галдунова, Г., ...Шлоссерова, А. (2016). Гіпергомоцистеїнемія як основа різних патологічних станів (огляд літератури). *Проблеми клінічної педіатрії*, 3-4 (33-34), 26-33.
32. Костюк, В. А., Потапович, А. И., & Ковалева, Ж. В. (1990). Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина. *Вопросы медицинской химии*, 2, 88-91.
33. Круглова, М. П., Иванов, А. В., Введенская, О. Ю., & Кубатиев, А. А. (2018). Гипергомоцистеинемия и хроническая болезнь почек. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*, 4 (62), 195-201.
34. Лифшиц, Р. И., Вальдман, Б. М., Волчегорский, И. А., & Лужевский, А. С. (1986). Роль среднемолекулярных пептидов крови в развитии кардиодепрессии при термических ожогах. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*, 3 (101), 280–282.
35. Лобзин, В. Ю., Литвиненко, И. В., & Емелин, А. Ю. (2015). Гипергомоцистеинемия – фактор риска цереброваскулярного повреждения, нейродегенерации и прогрессирования нарушений когнитивных функций при деменциях. *Вестник Российской военно-медицинской академии*, 4 (52), 100-105.
36. Луцюк, М. Б., Заїчко, Н. В., Григор'єва, Г. С., Конахович, М. А., Артемчук, М. А., Пентюк, Н. О., ... Поставітенко, К. П. (2013). Синдром гіпергомоцистеїнемії: причини виникнення, способи профілактики та лікування. *Рациональная фармакотерапия*, 29(4), 55-60.
37. Медведев, Д. В., Звягина, В. И., Урясьев, О. М., Бельских, Э. С., Бутолецкий, С. В., & Рябков, А. Н. (2017). Метаболические изменения в митохондриях легких при экспериментальной гипергомоцистеинемии у крыс. *Биомедицинская химия*, 3, 248-254.

38. Медведев, Д. В., Звягина, В. И., Урясьев, О. М., Бельских, Э. С., & Фалетрова, С. В. (2017). Изменение показателей окислительного стресса при моделировании дефицита синтеза оксида азота (II) в митохондриях ткани легких у крыс. *Земский врач*, 34-37.
39. Медведев, Д. В., & Звягина, В. И. (2017). Молекулярные механизмы токсического действия гомоцистеина. *Кардиологический вестник*, 1, 52-57.
40. Мельник, А. В., & Заїчко, Н. В. (2017). Гендерні особливості впливу гіпергомоцистеїнемії на метаболізм сірковмісних амінокислот та гідроген сульфїду в печінці. *Медична та клінічна хімія*, 1(19), 95-101.
41. Милютин, Ю. П., Пустыгина, А. В., Щербицкая, А. Д., Залозня, И. В., & Арутюнян, А. В. (2016). Сравнение показателей окислительного стресса в сыворотке крови крыс при различных моделях гипергомоцистеинемии. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*, 3 (109), 120-123.
42. Михнева, А. Г., Димитренко, Е. В., & Чабан, Н. Б. (2016). *Возрастная морфология: учебно-методическое пособие*. Тирасполь: ГОУ ПГУ.
43. Наумов, А. В., Данильчик, И. В., & Сарана, Ю. В. (2016). Три пути реметилизации гомоцистеина. *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*, 2, 27-32.
44. Нечипорук, В. М., Заїчко, Н. В., Мельник, А. В., & Корда, М. М. (2014). Роль тиреоїдних гормонів в обміні гомоцистеїну. *Медична хімія*, 1(16), 81-88.
45. Никель, В. В., Касимцев, А. А., & Ефремова, В. П. (2014). Возрастная изменчивость межсосудистой соединительной ткани легких на этапах постнатального онтогенеза. *Казанский медицинский журнал*, 2 (95), 240-244.
46. Ольховський, О. С., Мельник, А. В., & Заїчко, Н. В. (2011). Вікові відмінності продукції гідроген сульфїду в серці та аорті щурів. *Актуальні проблеми сучасної медицини*, 4 (11), 133-137.
47. Пасатецкая, Н. А., Лопатин, А. И., Кипенко, А. В., & Лопатина, Е. В. (2017). Изучение токсического эффекта гомоцистеин тиолактона в условиях

органотипического культивирования ткани кости. *Волгоградский научно-медицинский журнал*, 1, 6-11.

48. Пентюк, А. А., Гуцол, В. И., Яковлева, О. А. (1987). Определение фосфолипидов по образованию гидрофобного комплекса с феротиоцианатом аммония. *Лабораторное дело*, 6, 457–459.

49. Пентюк, О. О., Луцюк, М. Б., Андрушко, І. І., & Поставітенко, К. П. (2003). Метаболізм гомоцистеїну та його роль у патології. *Український біохімічний журнал*, 1, 5-17.

50. Пентюк, О. О., Луцюк, М. Б., & Поставітенко, К. П. (2004). Гіпергомоцистеїнемія: моделювання та вплив на стан судинної системи в експерименті. *Досягнення біології та медицини*, 1(3), 35-38.

51. Пентюк, О. О., Луцюк, М. Б., & Артемчук, М. А. (2007). *Доклінічні дослідження гіпергомоцистеїнемічної дії потенційних лікарських засобів*. К.: ДФЦ МОЗ України.

52. Пентюк, О. О., Луцюк, М. Б., & Андрушко, І. І. (2007). Вітаміни В9, В12 та В6, поліморфізм ферментів їх обміну, зв'язок з метаболізмом гомоцистеїну, роль в патології. Ренесанс клінічної вітамінології. *Медицина хімія*, 1(9), 126-131.

53. Пентюк, О. О., Луцюк, М. Б., & Заїчко, Н. В. (2008). Патогенетичні аспекти гіпергомоцистеїнемії та перспективи створення лікарських засобів для лікування патології, асоційованої з порушеннями обміну гомоцистеїну. *Biomedical and biosocial anthropology*, 10, 297-303.

54. Пентюк, Н. О., & Харченко, Н. В. (2010). Гіперпродукція вазоактивних медіаторів як патогенетичний чинник розвитку ускладнень цирозу печінки у щурів. *Сучасна гастроентерологія*, 2(52), 33-43.

55. Пилипчук, Т. П., & Криницька, І. Я. (2019). Дослідження показників ендогенної інтоксикації у щурів в динаміці розвитку синдрому тривалого стиснення. *Вісник проблем біології і медицини*, 1 (2), 171-175.

56. Пуликов, А. С., Ефремов, С. Н., Брюховец, Т. Г., Левкович, Л. Г., Кривенко, Э. Д., Сухова, Л. Е., ...Данилов, А. А. (2006). *Курс возрастной*

гистологии: учебное пособие для студентов медицинских ВУЗов. Красноярск: ООО «Версо».

57. Пустоветова, М. Г., Чикинев, Ю В., Пионтковская, К. А., Дробязгин, Е. А. (2014). Молекулярно-клеточные механизмы развития фиброза легких и спонтанного пневмоторакса. *Бюллетень СО РАМН*, 34 (5), 17-21.

58. Рубцов, Г. К., Безручко, Н. В., Садовникова, Д. Г., Козлова, Г. А., & Анопин, К. Д. (2013). Клинико-биохимическое значение комплексного изучения молекул средней массы и окислительной модификации белков для оценки эндотоксикоза. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*, 2, 41-47.

59. Самборська, І. А. (2021). Порівняльна характеристика гістологічних змін тканини легень у щурів різного віку за умов гіпергомоцистеїнемії. *Вісник Вінницького національного медичного університету*, 2 (25), 196-200.

60. Самборська, І. А., Заїчко, Н. В., Маєвський, О. Є. (2020). *Мікроскопічні та біохімічні зміни в легенях щурів молодого віку за умов гіпергомоцистеїнемії*. Тези опубліковані в матеріалах XVII Науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Перший крок в науку – 2020», Вінниця (стор. 512).

61. Самборська, І. А., & Маєвський, О. Є. (2019). *Електронно-мікроскопічні зміни в легенях щурів віком 1-2 місяці за умов гіпергомоцистеїнемії*. Тези опубліковані в матеріалах наукової конференції «Прикладні аспекти морфології експериментальних і клінічних досліджень», Тернопіль (стор. 155-156).

62. Самборська, І. А., & Маєвський, О. Є. (2019). *Електронно-мікроскопічні зміни в легенях щурів віком 6-8 та 24-26 місяців за умов гіпергомоцистеїнемії*. Тези опубліковані в матеріалах VII Конгресу наукового товариства анатомів, гістологів, ембріологів, топографоанатомів України, Одеса (стор. 366-367).

63. Самусев, Р. П., Зубарева, Е. В., & Рудаскова, Е. С. (2012). *Возрастная морфология: учебное пособие*. Волгоград: ФГБОУВПО «ВГАФК».

64. Степанова, Т. В., Иванов, А. Н., Терешкина, Н. Е., Попыхова, Э. Б., & Лагутина, Д. Д. (2019). Маркеры эндотелиальной дисфункции: патогенетическая роль и диагностическое значение (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика*, 64 (1), 34-41.
65. Студеникина, Т. М. (2020). *Эмбриогенез и раннее постнатальное развитие: учебно-методическое пособие*. Минск: БГМУ.
66. Фомина, М. А., & Терентьев, А. А. (2018). Влияние аргинина на активность и компартиментализацию лизосомальных цистеиновых протеиназ паренхиматозных органов при оксидативном стрессе на фоне экспериментальной гипергомоцистеинемии. *Российский медико-биологический вестник имени академика И. П. Павлова*, 26 (2), 195-212.
67. Худякова, Н. В., Пчелин, И. Ю., Шишкин, А. Н., Смирнов, В. В., Иванов, Н. В., Макаренко, М. В., ... Старосельский, К. Г. (2017). Гипергомоцистеинемия у мужчин с метаболическим синдромом и ранними стадиями хронической болезни почек. *Артериальная гипертензия*, 23(2), 141-149.
68. Цигикало, О. В., & Ходоровська, А. А., (2017). Особливості ембріогенезу дихальної системи людини. *Biomedical and biosocial anthropology*, 28, 17-21.
69. Цыбиков, Н. Н., Фефелова, Е. В., Терешков, П. П., & Изместьев, С. В. (2016). Дисфункция эндотелия при экспериментальной гипергомоцистеинемии. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*, 3, 42-46.
70. Abdallah, G. M., Abdullah, A., Omran, G. A., & Mariee, A. D. (2009). Serum homocysteine level in COPD patients: possible beneficial effect of antioxidants. *Res J Medicine & Med Sci*, 4(2), 306-310.
71. Agan, V., Celik, H., Eren, M. A., Agan, F. Z., Erel, O., Neselioglu, S., ... Gonel, A. (2019). An investigation of oxidative stress and thiol / disulphide homeostasis in Grave's disease. *Medicina (Kaunas)*, 55 (6): 275.
72. Ajjan, R., Watson, P., Weetman, A. (1996). Cytokines and thyroid function. *Adv Neuroimmunol*, 6(4), 359-86.

73. Al Mutairi, F. (2020). Hyperhomocysteinemia: Clinical insights. *Journal of Central Nervous System Disease*, 12:1179573520962230.
74. AnandBabu, K., Sen, P., & Angayarkanni, N. (2019). Oxidized LDL, homocysteine, homocysteine thiolactone and advanced glycation end products act as pro-oxidant metabolites inducing cytokine release, macrophage infiltration and pro-angiogenic effect in ARPE-19 cells. *PLoS One*, 14 (5): e0216899.
75. Andreichin, S., & Holomsha, T. (2012). Modern presentations of metabolic endogenous intoxication. *Infectious diseases*, 1, 84-87.
76. Avci, G. A., & Avci, E. (2016). Homocysteine: a risk factor for the development of cardiovascular events in chronic respiratory diseases. *Biomedical research*, 450-453.
77. Azad, M. A. K., Huang, P., Liu, G., Ren, W., Teklebrh, T., Yan, W., ... Yin, Y. (2018). Hyperhomocysteinemia and cardiovascular disease in animal model. *Amino Acids*, 50 (1), 3-9.
78. Babaoglu, E., Kilic, H., Hezer, H., Dag, O., Parlak, E., Senturk, A., ... Hasanoglu, H. C. (2016). Comparison of thiol/disulphide homeostasis parameters in patients with COPD, asthma and ACOS. *European review for medical and pharmacological sciences*, 20 (8), 1537-1543.
79. Bai, Y., Fang, F., Jiang, J., & Xu, F. (2017). Extrinsic calcitonin gene-related peptide inhibits hyperoxia-induced alveolar epithelial type II cells apoptosis, oxidative stress and reactive oxygen species production by enhancing notch 1 and homocysteine-induced endoplasmic reticulum protein (HERP) expression. *Medical science*, 23, 5774-5782.
80. Bakalyuk, O., Punchyshyn, N., & Dziga, S. (2000). Endogenous intoxication syndrome, mechanism of origin, methods of identification. *Bull Sci Res*, 1, 11-13.
81. Balint, B., Jepchumba, V. K., Gueant, J. L., & Gueant-Rodriguez, R. M. (2020). Mechanisms of homocysteine-induced damage of the endothelial, medial and adventitial layers of the arterial wall. *Biochimie*, 173, 100-106.

82. Behera, J., Bala, J., Nuru, M., Tyagi, S. C., & Tyagi, N. (2017). Homocysteine as a pathological biomarker for bone disease. *J Cell Physiol*, 232 (10), 2704-2709.
83. Behera, J., Tyagi, S. C., & Tyagi, N. (2019). Hyperhomocysteinemia induced endothelial progenitor cells dysfunction through hypermethylation of CBS promoter. *Biochem Biophys Res Commun*, 510 (1), 135-141.
84. Beletic, A., Mirkovic, D., Dudvarski, A., Milenkovic, B., Nagorni-Obradovic, L., Dordevic, V., ... Majkic-Singh, N. (2015). Questionable reliability of homocysteine as the metabolic marker for folate and vitamin B₁₂ deficiency in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *J Med Biochem*, 34 (4), 467-472.
85. Bescond, A., Augier, T., Chareyre, C., Garcon, D., Hornebeck, W., & Charpiot, P. (1999). Influence of homocysteine on matrix metalloproteinase-2: activation and activity. *Biochem Biophys Res Commun*, 263 (2), 498–503.
86. Bond, J. S. (2019). Proteases: History, discovery, and roles in health and disease. *J Biol Chem*, 294(5), 1643–1651.
87. Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, 72, 248–254.
88. Brandenberger, C., & Mühlfeld, C. (2017). Mechanisms of lung aging. *Cell Tissue Res*, 367 (3), 469-480.
89. Brian C. W. & Hummel. A. (1959). Modified spectrophotometric determination of chymotrypsin, trypsin, and thrombin. *Can J Biochem Physiol*, 37, 1393-1399.
90. Bush A. (2016). Lung development and aging. *Ann Am Thorac Soc*, 5, 438-446.
91. Casella, G., Antonelli, E., Bella, C. D., Marco, E. D., Piatti, M., Villanacci, V., ... Bassotti, G. (2013). Hyperhomocysteinemia in patients with Crohn's disease. *Tech Coloproctol*, 17 (5), 497-500.
92. Caturegli, P., Kimura, H., Rocchi, R., & Rose, N. (2007). Autoimmune thyroid diseases. *Curr Opin Rheumatol*, 19(1), 44–48.

93. Chaudhary, D., Sharma, N., & Senapati, S. (2019). Serum homocysteine could be used as a predictive marker for chronic obstructive pulmonary disease: A meta-analysis. *Front Public Health*, 7: 69.
94. Chausalet, M., Lamy, E., Foucault-Bertaud, A., Genovesio, C., Sabatier, F., Dignat-George, F., ... Charpiot, P. (2004). Homocysteine modulates the proteolytic potential of human vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 316(1), 170-176.
95. Cho, K. H., Jeong, M. H., Sim, D. S., Hong, Y. J., Kim, J. H., Ahn, Y., ... Kang, J. C. (2013). Pulmonary thromboembolism due to severe hyperhomocysteinemia associated with a methyltetrahydrofolate reductase mutation. *Korean J Intern Med*, 28 (1), 112-115.
96. Cho, S. J., & Stout-Delgado, H. W. (2020). Aging and lung disease. *Annu Rev Physiol*, 82, 433-459.
97. Chornenka, N., Domylivska, L., Kravchenko, O., Koval, T., Torgalo, L., Kostiuk, A., ... Ostapchenko, L. (2020). The effect of melanin on the proteolytic potential of blood under alkali esophageal burn. *J Biol Res*, 93(1), 63-67
98. Chung, Y. C., Kruyer, A., Yao, Y., Feerman, E., Richards, A., Strickland, S., ... Norris, E. H. (2016). Hyperhomocysteinemia exacerbates Alzheimer's disease pathology by way of the β -amyloid fibrinogen interaction. *J Thromb Haemost*, 14 (7), 1442-1452.
99. Crowther, J. R. (2009). *The ELISA guidebook: Second Edition. Methods in Molecular Biology*, NY: Humana Pres.
100. Da Cunha, A. A., Ferreira, A. G., Cunha, M. J., Pedezolli, C. D., Decker, D. L., Coelho, J. G., ...Wyse, A. (2011). Chronic hyperhomocysteinemia induces oxidative damage in the rat lung. *Molecular and cellular biochemistry*, 1(2), 153-160.
101. Den Dekker, H. T., Jaddoe, V. W., Reiss, I. K., de Jongste, J. C., & Duijts, L. (2018). Maternal folic acid use during pregnancy, methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism and child's lung function and asthma. *Clin Exp Allergy*, 48(2), 175-185.

102. Derouiche, F., Bole-Feysot, C., Naimi, D., & Coëffier, M. (2014). Hyperhomocysteinemia-induced oxidative stress differentially alters proteasome composition and activities in heart and aorta. *Biochem Biophys Res Commun*, 452 (3), 740-745.
103. Djuric, D., Jakovljevic, V., Zivkovic, V., & Srejovic, I. (2018). Homocysteine and homocysteine-related compounds: an overview of the roles in the pathology of the cardiovascular and nervous systems. *Can J Physiol Pharmacol*, 96 (10), 991-1003.
104. Du, X., Xiao, L., Sun, R., Li, K., Liang, L., Song, L., ... Liu, Z. (2020). A prospective cohort study of MTHFR C677T gene polymorphism and its influence on the therapeutic effect of homocysteine in stroke patients with hyperhomocysteinemia. *BMC Neurol*, 20 (1): 128.
105. Durda, K., Kaklewski, K., Gupta, S., Szydowski, M., Baszuk, P., Jaworska-Bieniek, K., ... Jakubowska, A. (2017). Serum folate concentration and the incidence of lung cancer. *PLoS ONE*, 12(5), 1-10.
106. Esse, R., Barroso, M., Tavares de Almeida, I., & Castro, R. (2019). The contribution of homocysteine metabolism disruption to endothelial dysfunction: State-of-the-art. *Int J Mol Sci*, 20 (4): 867.
107. Eyring, K. R., Pedersen, B. S., Maclean, K. N., Stabler, S. P., Yang, I. V., & Schwartz, D. A. (2018). Methylene-tetrahydrofolate reductase contributes to allergic airway disease. *PLoS ONE*, 13 (1): e0190916.
108. Fatima, S., Hafeez, A., Ijaz, A., Asif, N., Awan, A., & Sajid, A. (2018). Classical homocystinuria in a juvenile patient. *J Coll Physicians Surg Pak*, 28 (6), 488-489.
109. Faversoni, J. L., Hammerschmidt, T. G., Sitta, A., Deon, M., Wajner, M., & Vargas, C. R. (2017). Oxidative stress in homocysteinuria due to cystathione β -synthase deficiency: findings in patients and in animal model. *Cell Mol Neurobiol*, 37(8), 1477-1485.
110. Fimognari, F. L., Loffredo, L., Simone, S., Sampietro, F., Pastorelli, R., Monaldo, M., ... & D'Angelo, A. (2009). Hyperhomocysteinemia and poor vitamin B

status in chronic obstructive pulmonary disease. *Nutr Metab Cardiovasc Diss*, 19(9), 654-659.

111. Friguet, B. (2006). Oxidized protein degradation and repair in ageing and oxidative stress. *FEBS Lett*, 580(12), 2910-2916.

112. Ganesh, B., Bhattacharya, P., Gopisetty, A., & Prabhakar, B. (2011). Role of cytokines in the pathogenesis and suppression of thyroid autoimmunity. *J Interferon Cytokine Res*, 31(10), 721-731.

113. Ganguli, P., & Alam, S. F. (2015). Role of homocysteine in the development of cardiovascular disease. *Nutr J*, 14: 6.

114. Gurda, D., Handschuh, L., Kotkowiak, W., & Jakubowski, H. (2015). Homocysteine thiolactone and N-homocysteinylated protein induce pro-atherogenic changes in gene expression in human vascular endothelial cells. *Amino Acids*, 47 (7), 1319-1339.

115. Hamelet, J., Maurin, N., Fulchiron, R., Delabar, J. M., & Janel, N. (2007). Mice lacking cystathionine beta synthase have lung fibrosis and air space enlargement. *Exp Mol Pathol*, 83(2), 249-253.

116. Hasan, T., Arora, R., Bansal, A. K., Bhattacharya, R., Sharma, G. S., & Singh, L. R. (2019). Disturbed homocysteine metabolism is associated with cancer. *Exp Mol Med*, 51 (2), 1-13.

117. He, Y., Liu, S., Zhang, Z., Liao, C., Lin, F., Yao, W., ... Chen, Y. (2017). Imbalance of endogenous hydrogen sulfide and homocysteine in chronic obstructive pulmonary disease combined with cardiovascular disease. *Front Pharmacol*, 8: 624.

118. Herriges, M., & Morrisey, E. E. (2014). Lung development: orchestrating the generation and regeneration of a complex organ. *Development*, 141 (3), 502-513.

119. Hiraoka, M., & Kagawa, Y. (2017). Genetic polymorphisms and folate status. *Congenit Anom (Kyoto)*, 57 (5), 142-149.

120. Hong, P., Koza, S., & Bouvier, E. S. P. (2012). Size-exclusion chromatography for the analysis of protein biotherapeutics and their aggregates. *J Liq Chromatogr Relat Technol*, 35(20), 2923-2950.

121. Hsu, C. C., Cheng, C. H., Hsu, C. L., Lee, W. J., Huang, S. C., & Huang, Y. C. (2015). Role of vitamin B₆ status on antioxidant defenses, glutathione and related enzyme activities in mice with homocysteine-induced oxidative stress. *Food Nutr Res*, 59: 25702.
122. Hu, H., Wang, C., Jin, Y., Meng, Q., Liu, Q., Liu, K., ... Sun, H. (2016). Alpha-lipoic acid defends homocysteine-induced endoplasmic reticulum and oxidative stress in HAECs. *Biomed Pharmacother*, 80, 63-72.
123. Huo, Y., Wu, X., Ding, J., Geng, Y., Qiao, W., Ge, A., ... Fan W. (2018). Vascular remodeling, oxidative stress, and disrupted PPAR γ expression in rats of long-term hyperhomocysteinemia with metabolic disturbance. *PPAR Research*, 2018: 6738703.
124. Iacobazzi, V., Infantino, V., Castegna, A., & Andria, G. (2014). Hyperhomocysteinemia: Related genetic diseases and congenital defects, abnormal DNA methylation and newborn screening issues. *Mol Genet Metab*, 113 (1-2), 27-33.
125. Ivanov, V. T., Yatskin, O. N., Kalinina, O. A., Philippova, M. M., Karelin, A. A., & Blishchenko, E. Yu. (2000). Tissue-specific peptide pools. Generation and function. *Pure Appl Chem*, 72(3), 355–363.
126. Jakubowski, H. (2019). Homocysteine modification in protein structure / function and human disease. *Physiol Rev*, 99 (1), 555-604.
127. Kalashnikova, S., Polyakova, L., & Shchyogolev, A. (2011). Morphology of endocrine organs in chronic endogenous intoxication. *Bull Exp Biol Med*, 151(2), 247-249.
128. Kamat, P. K., Mallonee, C. J., George, A. K., Tyagi, S. C., & Tyagi, N. (2016). Homocysteine, alcoholism, and its potential epigenetic mechanism. *Alcohol Clin Exp Res*, 40 (12), 2474-2481.
129. Kamat, P. K., Vacek, J. C., Kalani, A., & Tyagi, N. (2015). Homocysteine induced cerebrovascular dysfunction: A link to Alzheimer's disease etiology. *Open Neurol J*, 9, 9-14.
130. Karelin, A. A., Blishchenko, E. Yu., & Ivanov, V. T. (1998). A novel system of peptidergic regulation. *FEBS Lett*, 428(1-2), 7-12.

131. Karmin, O., & Siow, Y. L. (2018). Metabolic imbalance of homocysteine and hydrogen sulfide in kidney disease. *Curr Med Chem*, 25 (3), 367-377.
132. Kawada, T. (2021). Smoking, hyperhomocysteinemia, metabolic syndrome, and cardiovascular risk. *Nutrition*, 81: 111031.
133. Keshteli, A. H., Baracos, V. E., & Madsen, K. L. (2015). Hyperhomocysteinemia as a potential contributor of colorectal cancer development in inflammatory bowel disease: a review. *World J Gastroenterol*, 21 (4), 1081-1090.
134. Khan, N. A., Saini, H., Mawari, G., Kumar, S., Hira, H. S., & Daga, H. K. (2016). The effect of folic acid supplementation on hyperhomocysteinemia and pulmonary function parameters in chronic obstructive pulmonary disease: a pilot study. *J Clin Diagn Res*, 10(11), 17-21.
135. Kim, S. J., Lee, B. H., Kim, Y. M., Kim, G. H., & Yoo, H. W. (2013). Congenital MTHFR deficiency causing early-onset cerebral stroke in a case homozygous for MTHFR thermolabile variant. *Metab Brain Dis*, 28 (3), 519-522.
136. Kim, J., Kim, H., Roh, H., & Kwon, Y. (2018). Causes of hyperhomocysteinemia and its pathological significance. *Arch Pharm Res*, 41 (4), 372-383.
137. Koller, A., Szenasi, A., Dornyei, G., Kovacs, N., Lelbach, A., & Kovacs, I. (2018). Coronary microvascular and cardiac dysfunction due to homocysteine pathometabolism; a complex therapeutic design. *Curr Pharm Des*, 24 (25), 2911-2920.
138. Laemmli, U. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227 (5259), 680-685.
139. Lai, C. H., Lee, C. N., Bai, K. J., Yang, Y. L., Chuang, K. J., Wu, S. M., ... Chuang, H. C. (2016). Protein oxidation and degradation caused by particulate matter. *Sci Rep*, 6: 33727.
140. Lai, W. K., & Kan, M. Y. (2015). Homocysteine-induced endothelial dysfunction. *Ann Nutr Metab*, 67 (1), 1-12.
141. Levin, B. L., & Varga, E. (2016). MTHFR: Addressing genetic counseling dilemmas using evidence-based literature. *J Genet Couns*, 25 (5), 901-911.

142. Lewin, G., & Hurtt, M. E. (2017). Pre- and postnatal lung development: An updated species comparison. *Birth Defects Res*, 109 (19), 1519-1539.
143. Liu, W. L., Liu, Z. W., Li, T. S., Wang, C., & Zhao, B. (2013). Hydrogen sulfide donor regulates alveolar epithelial cell apoptosis in rats with acute lung injury. *Clin Med J*, 126(3), 494-499.
144. Lowery, E. M., Brubaker, A. L., Kuhlmann, E., & Kovacs, E. J. (2013). The aging lung. *Clin Interv Aging*, 8, 1489-1496.
145. Mahajan, R. T., & Badgujar, S. B. (2010). Biological aspects of proteolytic enzymes: A review. *J Pharm Res*, 3(9), 2048-2068.
146. Malinowska, J., Kolodziejczyk, J., & Olas, B. (2012). The disturbance of hemostasis induced by hyperhomocysteinemia; the role of antioxidants. *Acta Biochim Pol*, 59 (2), 185-194.
147. McCully, K. S. (2015). Homocysteine and the pathogenesis of atherosclerosis. *Expert Rev Clin Pharmacol*, 8 (2), 211-219.
148. McCully, K. S. (2015). Homocysteine metabolism, atherosclerosis, and diseases of aging. *Compr Physiol*, 6 (1), 471-505.
149. Meiners, S., & Greene, C. M. (2014). Protein quality control in lung disease: it's all about cloud networking. *Eur Respir J*, 44 (4), 846-849.
150. Mikoś, H., Mikoś, M., Obara-Moszyńska, M., & Niedziela, M. (2014). The role of the immune system and cytokines involved in the pathogenesis of autoimmune thyroid disease (AITD). *Endokrynol Pol*, 65(2), 150-155.
151. Mittal, M., Verma, R., Mishra, A., Singh, A., Kumar, V., Sawlani, K. K., ... Gaur, R. (2018). Relation of bone mineral density with homocysteine and cathepsin K levels in postmenopausal women. *Indian J Endocrinol Metab*, 22 (2), 261-266.
152. Mohammad, G., & Kowluru, R. A. (2020). Homocysteine disrupts balance between MMP-9 and its tissue inhibitor in diabetic retinopathy: the role of DNA methylation. *Int J Mol Sci*, 21 (5): 1771.
153. More, A. V., & Rege, S. (2018). Superior mesenteric vein thrombosis due to hyperhomocysteinemia. *J Assoc Physicians India*, 66 (12): 99.

154. Moretti, R. (2019). Homocysteine: New aspects of an ancient enigma. *Cardiology*, 144 (1-2), 36-39.
155. Mudra, U. O., & Andreychyn, S. M. (2019). Endogenous intoxication, lipid peroxidation and the body's antioxidant system in gout patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Medical and Clinical Chemistry*, (3), 64–70.
156. Mullassery, D., & Smith, N. P. (2015). Lung development. *Semin Pediatr Surg*, 24 (4), 152-155.
157. Munilla-Moran, R., & Stark, J. R. (1989). Protein digestion in early turbot larvae, *Scophthalmus maximus* (L.). *Aquaculture*, 8, 315–327.
158. Murray, L. K., & Jadavji, N. M. (2019). The role of one-carbon metabolism and homocysteine in Parkinson's disease onset, pathology and mechanisms. *Nutr Res*, 32 (2), 218-230.
159. Mursleen, M. T., & Riaz, S. (2017). Implication of homocysteine in diabetes and impact of folate and vitamin B₁₂ in diabetic population. *Diabetes Metab Syndr*, 1, 141-146.
160. Nakano, H., Inoue, S., Igarashi, A., Tokairin, Y., Yamauchi, K., Kimura, T., ... Shibata, Y. (2021). Effect of hyperhomocysteinemia on a murine model of smoke-induced pulmonary emphysema. *Research Square*. URL: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-249722/v1>.
161. Nekrut, D. O., Zaichko, N. V., & Strutinska, O. B. (2017). Levels of insulin-like growth factor-1 and hydrogen sulfide in rats with nonalcoholic fatty liver disease associated with hyperhomocysteinemia. *Medical and Clinical Chemistry*, 1, 40-46.
162. Nikolic, M. Z., Sun, D., & Rawlins, E. L. (2018). Human lung development: recent progress and new challenges. *Development*, 145 (16): dev163485.
163. Nykolaychyk, B. B, Moyn, V. M, & Kyrkovskyy, V. V. (1991). Method for determining of the peptide pool molecular. *Laboratory case*, 10, 13–18.
164. O'Shea, J., Ma, A., & Lipsky, P. (2002). Cytokines and autoimmunity. *Nat Rev Immunol*, 2(1), 37–45.

165. Ouyang, Y., Wu, Q., Li, J., & Sun, S. (2020). S-adenosylmethionine: A metabolite critical to the regulation of autophagy. *Cell Prolif*, 53 (11): e12891.
166. Ovechkin, A.V., Tyagi, N., Sen, U., Lominadze, D., Steed, M.M., Moshal, K.S., ... Tyagi, S.C. (2006). 3- Deazaadenosine mitigates arterial remodeling and hypertension in hyperhomocysteinemic mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 291 (5), 905–911.
167. Ozdemir, O., Gundogdu, F., Karakelleoglu, S., Sevimli, S., Pirim, I., Acikel, ... Serdar, S. (2008). Comparison of serum levels of inflammatory markers and allelic variant of interleukin-6 in patients with acute coronary syndrome and stable angina pectoris. *Coron Artery Dis*, 19 (1), 15-19.
168. Park, S. J., Kim, K. J., Kim, W. U., Oh, I. H., & Cho, C. S. (2012). Involvement of endoplasmic reticulum stress in homocysteine-induced apoptosis of osteoblastic cells. *J Bone Miner Metab*, 30 (4), 474-484.
169. Perez-Miguelsauz, J., Vallecillo, N., Carrido, F., Reytor, E., Perez-Sala, D., & Pajares, M. A. (2017). Betaine homocysteine S-methyltransferase emerges as a new player of the nuclear methionine cycle. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 1864 (7), 1165-1182.
170. Perla-Kajan, J., & Jakubowski, H. (2019). Dysregulation of epigenetic mechanisms of gene expression in the pathologies of hyperhomocysteinemia. *Int J Mol Sci*, 20 (13): 3140.
171. Perna, A. F., & Ingrosso, D. (2019). Homocysteine and chronic kidney disease: an ongoing narrative. *J Nephrol*, 32 (5), 673-675.
172. Petras, M., Tatarkova, Z., Kovalska, M., Mokra, D., Dobrota, D., Lehotsky, J., Drgova, A. (2014). Hyperhomocysteinemia as a risk factor for the neuronal system disorders. *J Physiol Pharmacol*, 65 (1), 15-23.
173. Pi, T., Liu, B., & Shi, J. (2020). Abnormal homocysteine metabolism: an insight of Alzheimer's disease from DNA methylation. *Behav Neurol*, 2020: 8438602.
174. Poddar, R., & Paul, S. (2013). Novel crosstalk between ERK MAPK and p38 MAPK leads to homocysteine-NMDA receptor-mediated neuronal cell death. *J Neurochem*, 124 (4), 558-570.

175. Pushpakumar, S., Kundu, S. & Sen, U. (2014). Endothelial dysfunction: the link between homocysteine and hydrogen sulfide. *Curr Med Chem*, 21(32), 3662-3672.
176. Raksha, N., Halenova, T., Vovk, T., Kharchenko, O., Savchuk, O., Samborska, I., Zaichko, N., Ostapchenko, L., & Maievskyi, O. (2021). Protein-peptide composition in the lungs of rats with hyperhomocysteinemia. *Journal of Biological Research*, 94: 9858. URL: <https://doi.org/10.4081/jbr.2021.9858>.
177. Rasmussen, A. (2000). Cytokine actions on the thyroid gland. *Dan Med Bull*, 47(2), 94-114.
178. Reddy, V. S., Trinath, J., & Reddy, G. B. (2019). Implication of homocysteine in protein quality control processes. *Biochimie*, 165, 19-31.
179. Rehman, T., Shabbir, M. A., Inam-Ur-Raheem, M., Manzoor, M. F., Ahmad, N., Liu, Z. W., ... Aadil, R. M. (2020). Cysteine and homocysteine as biomarker of various diseases. *Food Sci Nutr*, 8 (9), 4696-4707.
180. Rhodehouse, B. C., Mayo, J. N., Beard, R. S. Jr., Chen, C. H., & Bearden, S. E. (2013). Opening of the blood-brain barrier before cerebral pathology in mild hyperhomocysteinemia. *PLoS One*, 8: e63951.
181. Samborska I. A. (2020). Changes in the histostructure of the lungs of old rats under conditions of persistent hyperhomocysteinemia. *Biomedical and Biosocial Anthropology*, 41, 41-45.
182. Samborska, I. (2019). Features of microscopic changes in lung structure of young rats under conditions of hyperhomocysteinemia. *Reports of Morphology*, 25 (3), 5-9.
183. Samborska, I., Kovalchuk, O., Fagoonee, S., Kovalchuk, O., Fagoonee, S., Falalyeyeva, T., & Maievskyi, O. (2020). The Role of Hyperhomocysteinemia on the Development of Changes in the Lungs. *Rev Recent Clin Trials*, 15 (1), 48-59.
184. Samborska, I. A., Maievskyi, O. Y., Kovalchuk, O. I., & Ahafonov, K. M. (2020). Ultrastructural changes in the lungs of 1-2 months-old rats in the conditions of hyperhomocysteinemia. *World of Medicine and Biology*, 1 (71), 214-217.

185. Samborska, I. A., Maievskiy, O. Ye., & Nebesna, Z. M. (2019). Features of histological changes in the lungs of mature animals under conditions of hyperhomocysteinemia. *Biomedical and Biosocial Anthropology*, 37, 32-37.
186. Schalinske, K. L., & Smazal, A. L. (2012). Homocysteine imbalance: a pathological metabolic marker. *Adv Nutr*, 3 (6), 755-762.
187. Schittny, J. C. (2017). Development of the lung. *Cell Tissue Res*, 367 (3), 427-444.
188. Sharma, G. S., Kumar, T., Dar, T. A., & Singh, L. R. (2015). Protein N-homocysteinylolation: From cellular toxicity to neurodegeneration. *Biochim Biophys Acta*, 1850 (11), 2239-2245.
189. Shastry, S., & Tyagi, S. C. (2004). Homocysteine induces metalloproteinase and shedding of beta-1 integrin in microvessel endothelial cells. *J Cell Biochem*, 93(1), 207–213.
190. Shen, W., Gao, C., Cueto, R., Liu, L., Fu, H., Shao, Y., ... Wang, H. (2020). Homocysteine-methionine cycle is a metabolic sensor system controlling methylation-regulated pathological signaling. *Redox Biol*, 28: 101322.
191. Shi, Y. F., Chi, J. F., Tang, W. L., Xu, F. K., Liu, L. B., Ji, Z., ... Guo, H. Y. (2013). Effects of rosuvastatin on the production and activation of matrix metalloproteinase-2 and migration of cultured rat vascular smooth muscle cells induced by homocysteine. *J Zhejiang Univ Sci B*, 14(8), 696-704.
192. Shiao, S. P. K., Lie, A., & Yu, C. H. (2018). Meta-analysis of homocysteine-related factors on the risk of colorectal cancer. *Oncotarget*, 9 (39), 25681-25697.
193. Silla, Y., Varshney, S., Ray, A., Basak, T., Zinelly, A., Sabaresh, V., ... Sengupta, S. (2019). Hydrolysis of homocysteine thiolactone results in the formation of protein-cys-S-S-homocysteinylolation. *Proteins*, 87 (8), 625-634.
194. Skloot, G. S. (2017). The effects of aging on lung structure and function. *Clin Geriatr Med*, 33 (4), 447-457.

195. Skovierova, H., Mahmood, S., Blahovcova, E., Hatok, J., Lehotsky, J., & Murin, R. (2015). Effect of homocysteine on survival of human glial cells. *Physiol Res*, 64 (5), 747-754.
196. Skovierova, H., Vidomanova, E., Mahmood, S., Sopkova, J., Drgova, A., Cervenova, T.,...Lehotsky, J. (2016). The molecular and cellular effect of homocysteine metabolism imbalance on human health. *Int J Mol Sci*, 17 (10): 1733.
197. Stangl, G., Weisse, K., Dinger, C., Hirche, F., Brandsch, C., & Eder, K. (2007). Homocysteine thiolactone-induced hyperhomocysteinemia does not alter concentrations of cholesterol and SREBP-2 target gene mRNAs in rats. *Exp Biol Med (Maywood)*, 232(1), 81-87.
198. Stanislawska-Sachadyn, A., Borzyszkowska, J., Krzeminski, M., Janowicz, A., Dziadziuszko, R., Jassem, J., ... Limon, J. (2019). Folate / homocysteine metabolism and lung cancer risk among smokers. *PLoS ONE*, 14 (4): e0214462.
199. Steed, M. M., Tyagi, N., Sen, U., Schuschke, D. A., Joshua, I. G., & Tyagi, S. C. (2010). Functional consequences of the collagen / elastin switch in vascular remodeling in hyperhomocysteinemic wild-type, eNOS^{-/-}, and iNOS^{-/-} mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 299(3), 301-311.
200. Stocks, J., Hislop, A., & Sonnappa, S. (2013). Early lung development: lifelong effect on respiratory health and disease. *Lancet Respir Med*, 1 (9), 728-742.
201. Sorensen, J. T., Gaustadnes, M., Stabler, S. P., Allen, R. H., Mudd, S. H., & Hvas, A. M. (2016). Molecular and biochemical investigations of patients with intermediate or severe hyperhomocysteinemia. *Mol Genet Metab*, 117 (3), 344-350.
202. Sreckovic, B., Sreckovic, V. D., Solatovic, I., Colak, E., Sumarac-Dumanovic, M., Janeski, H., ...Mrdovic, I. (2017). Homocysteine is a marker for metabolic syndrome and atherosclerosis. *Diabetes Metab Syndr*, 11 (3), 179-182.
203. Surate Solaligue, D. E., Rodriguez-Castillo, J. A., Ahlbrecht, K., Morty, R. E. (2017). Recent advances in our understanding of the mechanisms of late lung development and bronchopulmonary dysplasia. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 313 (6), 1101-1153.

204. Tastekin, D., Erturk, K., Bozbey, H. U., Olmuscelik, O., Kiziltan, H., Tuna, S., ... Tas, F. (2015). Plasma homocysteine, folate and vitamin B₁₂ levels in patients with lung cancer. *Exp Oncol*, 37(3), 218-222.
205. Timkova, V., Tatarkova, Z., Lehotsky, J., Recay, P., Dobrota, D., & Kaplan, P. (2016). Effects of mild hyperhomocysteinemia on electron transport chain complexes, oxidative stress and protein expression in rat cardiac mitochondria. *Mol Cell Biochem*, 411 (1-2), 261-270.
206. Togaybaev, A., Kurguzkin, A., & Rikun, I. (1988). Method of diagnosis of endogenous intoxication. *Laboratornoe delo*, 9, 22-24.
207. Tripathi, M., Zhang, C. W., Singh, B. K., Sinha, R. A., Moe, K. T., de Silva D. F.,...Yen, P. M. (2016). Hyperhomocysteinemia causes ER stress and impaired autophagy that is reversed by vitamin B supplementation. *Cell Death Dis*, 7(12): e2513.
208. Tyagi, N., Moshal, K. S., Tyagi, S. C., & Lominadze, D. (2009). Activation of GABA-A receptor ameliorates homocysteine-induced MMP-9 activation by ERK pathway. *J Cell Physiol*, 220(1), 257-66.
209. Wang, H., Sun, Q., Zhou, Y., Zhang, H., Luo, C., Xu, J., ...Wang, W. (2017). Nitration-mediated deficiency of cystathione β -synthase activity accelerates the progression of hyperhomocysteinemia. *Free Radic Biol Med*, 113, 519-529.
210. Wang, X., Wang, Y., Zhang, L., Zhang, D., Bai, L., Kong, W., ... Jin, H. (2019). L-cystathionine protects against homocysteine-induced mitochondria-dependent apoptosis of vascular endothelial cells. *Oxid Med Cell Longev*, 2019: 1253289.
211. Wang, Z. S., Jin, H., & Wang D. M. (2016). Influence of hydrogen sulphide on zymogen activation of homocysteine-induced matrix metalloproteinase-2 in H₉C₂ cardiocytes. *Asian Pac J Trop Med*, 9 (5), 489-493.
212. Wei, B., Tian, T., Liu, Y., & Li, C. (2020). The diagnostic value of homocysteine for the occurrence and acute progression of chronic obstructive pulmonary disease. *BMC Pulm Med*, 20 (1): 237.
213. Wu, H., Wang, J., Cao, M., Liang, J., Wu, D., Gu, X., ... Ke, K. (2020). Effects of homocysteine-induced endoplasmic reticulum protein on endoplasmic

reticulum stress, autophagy, and neuronal apoptosis following intracerebral hemorrhage. *IBRO Rep*, 9, 207-217.

214. Wu, S., Gao, X., Yang, S., Meng, M., Yang, X., & Ge, B. (2015). The role of endoplasmic reticulum stress in endothelial dysfunction induced by homocysteine thiolactone. *Fundam Clin Pharmacol*, 29 (3), 252-259.

215. Wu, X., Zhang, L., Miao, Y., Yang, J., Wang, X., Wang, C. C., ... Wang, L. (2019). Homocysteine causes vascular endothelial dysfunction by disrupting endoplasmic reticulum redox homeostasis. *Redox Biol*, 20, 46-59.

216. Xi, H, Zhang, Y, Xu, Y, Yang, W. Y., Jiang, X., Sha, X., ... Wang, H. (2016). Caspase-1 inflammasome activation mediates homocysteine-induced pyroptosis in endothelial cells. *Circ Res*, 118(10), 1525-1539.

217. Xu, R., Huang, F., Wang, Y., Liu, Q., Lv, Y., & Zhang, Q. (2020). Gender- and age-related differences in homocysteine concentration: a cross-sectional study of the general population of China. *Sci Rep*, 10 (1): 17401.

218. Xu, Y., Tian, Y., Wei, H. J., Dong, J. F., & Zhang, J. N. (2011). Methionine diet-induced hyperhomocysteinemia accelerates cerebral aneurysm formation in rats. *Neurosci Lett*, 494(2), 139-44.

219. Yang, J., Li, H., Deng, H., & Wang, Z. (2018). Association of one-carbon metabolism-related vitamins (folate, B₆, B₁₂), homocysteine and methionine with the risk of lung cancer: Systematic review and meta-analysis. *Front Oncol*, 8: 493.

220. Yang, F., Qi, X., Gao, Z., Yang, X., Zheng, X., Duan, C.,...Zheng, J. (2016). Homocysteine injures endothelial cells by inhibiting mitochondrial activity. *Exp Ther Med*, 12 (4), 2247-2252.

221. Yang, Q., & He, G. W. (2019). Imbalance of homocysteine and H₂S: Significance, mechanisms, and therapeutic promise in vascular injury. *Oxid Med Cell Longev*, 2019: 7629673.

222. Yatskin, O. N., Karelin, A. A., & Ivanov, V. T. (2009). Peptidomes of the brain, heart, lung, and spleen of a rat: Similarity and differences. *Bioorg Khim*, 35 (4), 426-436.

223. Zaric, B. L., Obradovic, M., Bajic, V., Haidara, M. A., Jovanovic, M., & Isenovic, E. R. (2019). Homocysteine and hyperhomocysteinemia. *Curr Med Chem*, 29 (16), 2948-2961.
224. Zhang, H., Liu, Z., Ma, S., Zhang, H., Kong, F., He, Y., ... Yang, A. (2016). Ratio of S-adenosylmethionine to S-adenosylhomocysteine as a sensitive indicator of atherosclerosis. *Mol Med Rep*, 14, 289-300.
225. Zhao, J., Chen, H., Liu, N., Chen, J., Gu, Y., Chen, J., ... Yang, K. (2017). Role of hyperhomocysteinemia and hyperuricemia in pathogenesis of atherosclerosis. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 26 (12), 2695-2699.
226. Zheng, S., Yang, W., Wu, C., Sun, L., Lin, D., Lin, X., ... Jiang, Y. (2017). Association of ulcerative colitis with transcobalamin II gene polymorphisms and serum homocysteine, Vitamin B₁₂, and folate levels in Chinese patients. *Immunogenetics*, 69 (7), 421-428.
227. Zhu, Z., Liu, C., Li, X., & Yao, X. (2020). Association between plasma total homocysteine level within normal range and bone mineral density in adults. *J Orthop Surg Res*, 15 (1): 475.

ДОДАТКИ

Додаток А

НАУКОВІ ПРАЦІ, В ЯКИХ ОПУБЛІКОВАНІ ОСНОВНІ НАУКОВІ РЕЗУЛЬТАТИ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Samborska I. A. Features of histological changes in the lungs of mature animals under conditions of hyperhomocysteinemia / I. A. Samborska, O. Ye. Maievskiyi, Z. M. Nebesna // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2019. – № 37. – P. 32-37.

2. Samborska I. A. Features of microscopic changes in lung structure of young rats under conditions of hyperhomocysteinemia / I. A. Samborska // Reports of morphology. – 2019. – Т. 25, № 3. – P. 5-9.

3. The role of hyperhomocysteinemia in the development of changes in the lungs / I. Samborska, O. Kovalchuk, S. Fagoonee, T. Falalyeyeva, O. Maievskiyi // Reviews on recent clinical trials. – 2020. – Vol. 15, Issue 1. – P. 48-59.

4. Ultrastructural changes in the lungs of 1-2 months-old rats in the conditions of hyperhomocysteinemia / I. A. Samborska, O. Y. Maievskiyi, K. M. Ahafonov, O. I. Kovalchuk // World of Medicine and Biology. – 2020. – Vol. 71, № 1. – P. 214-217.

5. Samborska I. A. Changes in the histostructure of the lungs of old rats under conditions of persistent hyperhomocysteinemia / I. A. Samborska // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2020. – № 41. – P. 41-45.

6. Самборська І. А. Порівняльна характеристика гістологічних змін тканини легень у щурів різного віку за умов гіпергомоцистеїнемії / І. А. Самборська // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2021. – Т. 25, № 2. – С. 196-200.

7. Protein-peptide composition in the lungs of rats with hyperhomocysteinemia / N. Raksha, T. Halenova, T. Vovk, O. Kharchenko, O. Savchuk, I. Samborska, N.

Zaichko, L. Ostapchenko, O. Maievskiy // Journal of Biological Research – 2021. – № 94: 9858. <https://doi.org/10.4081/jbr.2021.9858>

НАУКОВІ ПРАЦІ, ЯКІ ЗАСВІДЧУЮТЬ АПРОБАЦІЮ МАТЕРІАЛІВ ДИСЕРТАЦІЇ

8. Самборська І. А. Електронно-мікроскопічні зміни в легенях щурів віком 6-8 та 24-26 місяців за умов гіпергомоцистеїнемії / І. А. Самборська, О. Є. Маєвський // Збірник тез доповідей VII конгресу наукового товариства анатомів, гістологів, ембріологів, топографоанатомів України (2-4 жовтня 2019 р., м. Одеса). – Одеса, 2019. – С. 366-367.

9. Самборська І. А. Електронно-мікроскопічні зміни в легенях щурів віком 1-2 місяці за умов гіпергомоцистеїнемії / І. А. Самборська, О. Є. Маєвський // Збірник матеріалів науково-практичної конференції «Прикладні аспекти морфології експериментальних і клінічних досліджень» (10-11 жовтня 2019 р., м. Тернопіль). – Тернопіль, 2019. – С. 155-156.

10. Самборська І. А. Мікроскопічні та біохімічні зміни в легенях щурів молодого віку за умов гіпергомоцистеїнемії / І. А. Самборська, Н. В. Заїчко, О. Є. Маєвський // Збірник тез наукових робіт учасників XVII науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Перший крок в науку-2020» (8-10 квітня 2020 р., м. Вінниця). – Вінниця, 2020. – С. 512.

Апробація результатів дисертації:

- XVII науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Перший крок в науку-2020» (м. Вінниця, 2020) – усна доповідь.
- Науково-практичній конференції «Прикладні аспекти морфології експериментальних і клінічних досліджень» (м. Тернопіль, 2019) – стендова доповідь.

- VII конгресі наукового товариства анатомів, гістологів, ембріологів, топографоанатомів України (м. Одеса, 2019) – стендова доповідь.
- Науково-практичній мультидисциплінарній конференції «Досягнення сучасної медицини та фармакології на засадах медичної біохімії», присвяченій 70-річчю від дня народження професора О. О. Пентюка (м. Вінниця, 2019) – усна доповідь.

Додаток Б1

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з науково-педагогічної роботи
Буковинського державного медичного
університету

доц. Геруш І. В.

_____ 2021 року



А К Т В П Р О В А Д Ж Е Н Н Я

Назва роботи: “ Морфологічні зміни в легенях щурів з гіпергомоцистеїнемією залежно від віку (експериментальне дослідження)”.

1. Автор: Самборська Інга Анатоліївна, асистент кафедри біологічної та загальної хімії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова.

2. Пропозиція до впровадження: При електронно-мікроскопічному дослідженні вперше доведено, що структурні зміни легень у статевонезрілих тварин на тлі гіпергомоцистеїнемії відбуваються в аерогематичному бар'єрі, які супроводжуються набряком респіраторного епітелію, що пов'язано з реактивними процесами в органі. У дорослих щурів при гіпергомоцистеїнемії відмічається значне звуження просвіту альвеол, формування аутофагосом (деградація білків з подальшим розвитком запальних процесів, індукуючих аутоімунну відповідь), спостерігається підвищена активність макрофагів та плазмоцитів (активація гуморальної ланки імунітету). Для старих тварин дослідної групи характерні прояви пневмосклерозу, фіброзу, ускладнення трофіки та газообміну. Чітко спостерігається токсичний ефект накопичення гомоцистеїну з ознаками апоптозу ендотеліоцитів та некрозу у респіраторному відділі легень.

3. Актуальність дослідження: Хвороби органів дихання є надзвичайно розповсюдженою патологією в структурі захворюваності населення України та належать до глобальних проблем охорони здоров'я, насамперед унаслідок їх значної поширеності серед працездатного населення, постійного прогресування, частого поєднання різних патологій легень та обтяжливого впливу на супутні захворювання.

Найбільш поширені захворювання органів дихання серед дитячого населення. Вони є медико-соціальною проблемою, яка значною мірою визначає рівень дитячої захворюваності і малюкової смертності. Починаючись в дитинстві, бронхо-легенева патологія в ряді випадків призводить до інвалідності хворих у зрілому віці. Хвороби дихальної системи є також дуже поширеними серед дорослого населення і займають друге місце після захворювань серця та судин.

Гіпергомоцистеїнемія на сьогоднішній день є одним із факторів ризику виникнення і прогресування бронхо-легеневої патології. Однак наразі в наукометричних базах даних існує обмежена кількість інформації з зазначеного питання, а дослідження стосовно закономірностей гістологічних змін органу при гіпергомоцистеїнемії у віковому аспекті не проводились, що і визначає важливість даної роботи.

4. Установа-розробник: Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова.

5. Джерела інформації:

Samborska, I., Kovalchuk, O., Fagoonee, S., Kovalchuk, O., Fagoonee, S., Falalyeyeva, T., & Maievskiy, O. (2020). The Role of Hyperhomocysteinemia on the Development of Changes in the Lungs. *Rev Recent Clin Trials*, 15 (1), 48-59. DOI: 10.2174/1574887114666191114152235.

Samborska, I. A., Maievskiy, O. Y., Kovalchuk, O. I., & Ahafonov, K. M. (2020). Ultrastructural changes in the lungs of 1-2 months-old rats in the conditions of hyperhomocysteinemia. *World of Medicine and Biology*, 1 (71), 214-217. DOI:10.26724/2079-8334-2020-1-71-214-217.

6. Ким і коли впроваджено: кафедра гістології, цитології та ембріології

Буковинського державного медичного університету

Початок впровадження: 15.02. 2021 р.

Протокол засідання кафедри № 1 від 25.08 2021 р.

7. Форма впровадження: результати дослідження впроваджено у навчальний процес та лекційний курс.

8. Соціально-економічний ефект: покращення підготовки молодих спеціалістів.

Завідувач кафедри гістології, цитології та ембріології
Буковинського державного медичного університету,
д.мед.н., професор



О. В. Цигикало

Додаток Б2

ЗАТВЕРДЖУЮ
Перший проректор
з науково-педагогічної роботи
Полтавського державного
медичного університету

проф. Дворник В. М.

21.05. 2021 року



А К Т В П Р О В А Д Ж Е Н Н Я

Назва роботи: “ Морфологічні зміни в легенях щурів з гіпергомоцистеїнемією залежно від віку (експериментальне дослідження)”.

1. Автор: Самборська Інга Анатоліївна, асистент кафедри біологічної та загальної хімії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова.

2. Пропозиція до впровадження: Вперше при гістологічному дослідженні легень статевонезрілих тварин за умов гіпергомоцистеїнемії встановлені помірні деструктивні зміни судин, бронхів, компонентів респіраторного відділу, що спостерігаються на тлі набряків та гістолейкоцитарної інфільтрації; виявляються невеликі зони дис- та ателектазів, емфізематозного розширення. Виявлені зміни зворотні та мають пристосуально-компенсаторний характер.

У дорослих щурів за умов гіпергомоцистеїнемії встановлено пристосуально-компенсаторні та деструктивні зміни компонентів органу: значні площі дис- та ателектазів, емфізематозно змінені ділянки паренхіми; перибронхіально та паравазально визначаються формування запальних конгломератів, гісто- та лейкоцитарна інфільтрація.

Вперше доведено, що у тварин старого віку на фоні гіпергомоцистеїнемії розвиваються найбільш значні деструктивно-дегенеративні зміни, спостерігаються порушення стінок альвеол з виходом формених елементів крові в альвеолярний простір та утворення дрібних діapedезних крововиливів. Активація фібробластів проявляється вираженим колагенутворенням, яке зумовлює периваскулярний, перибронхіальний і інтерстиційний склероз, що чинить значний негативний вплив на процес газообміну в легенях.

3. Актуальність дослідження: Хвороби органів дихання є надзвичайно розповсюдженою патологією в структурі захворюваності населення України та належать до глобальних проблем охорони здоров'я, насамперед унаслідок їх значної поширеності серед працездатного населення, постійного прогресування, частого поєднання різних патологій легень та обтяжливого впливу на супутні захворювання.

Найбільш поширені захворювання органів дихання серед дитячого населення. Вони є медико-соціальною проблемою, яка значною мірою визначає рівень дитячої захворюваності і малюкової смертності. Починаючись в дитинстві, бронхо-легенева патологія в ряді випадків призводить до інвалідності хворих у зрілому віці. Хвороби дихальної системи є також дуже поширеними серед дорослого населення і займають друге місце після захворювань серця та судин.

Гіпергомоцистеїнемія на сьогоднішній день є одним із факторів ризику виникнення і прогресування бронхо-легеневої патології. Однак наразі в наукометричних ба-

зах даних існує обмежена кількість інформації з зазначеного питання, а дослідження стосовно закономірностей гістологічних змін органу при гіпергомоцистеїнемії у віковому аспекті не проводились, що і визначає важливість даної роботи.

4. Установа-розробник: Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова.

5. Джерела інформації: Samborska, I. (2019). Features of microscopic changes in lung structure of young rats under conditions of hyperhomocysteinemia. *Reports of Morphology*, 25 (3), 5-9. DOI: 10.31393/morphology-journal-2019-25(3)-01.

Samborska, I. A., Maievskyi, O. Ye., & Nebesna, Z. M. (2019). Features of histological changes in the lungs of mature animals under conditions of hyperhomocysteinemia. *Bio-medical and Biosocial Anthropology*, 37, 32-37. DOI: 10.31393/bba37-2019-05.

6. Ким і коли впроваджено: кафедра гістології, цитології та ембріології Полтавського державного медичного університету

Початок впровадження: 08.02.2021 р.

Протокол засідання кафедри № 2 від 21.05.2021р.

7. Форма впровадження: результати дослідження впроваджено у навчальний процес та лекційний курс.

8. Соціально-економічний ефект: покращення підготовки молодих спеціалістів.

Завідувач кафедри гістології,
цитології та ембріології
Полтавського державного
медичного університету,
д.мед.н., професор



В. І. Шепітько

Додаток БЗ

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з наукової роботи
 Тернопільського національного
 медичного університету
 імені І. Я. Горбачевського МОЗ України
 д. б. н. проф. Кліщ І. М.
 «_____» _____ 2021 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиція для впровадження:** матеріали кандидатської дисертації: «Морфологічні зміни в легенях щурів з гіпергомоцистеїнемією залежно від віку (експериментальне дослідження)».
2. **Установа розробника, автор:** кафедра біологічної та загальної хімії, Вінницький національний медичний університет ім. І. Я. Пирогова, асистент кафедри Самборська Інга Анатоліївна.
3. **Пропозиція до впровадження:** При електронно-мікроскопічному дослідженні вперше доведено, що структурні зміни легень у статевонезрілих тварин на тлі гіпергомоцистеїнемії відбуваються в аерогематичному бар'єрі, які супроводжуються набряком респіраторного епітелію, що пов'язано з реактивними процесами в органі. У дорослих щурів при гіпергомоцистеїнемії відмічається значне звуження просвіту альвеол, формування аутофагосом (деградація білків з подальшим розвитком запальних процесів, індукуючих аутоімунну відповідь), спостерігається підвищена активність макрофагів та плазмоцитів (активація гуморальної ланки імунітету). Для старих тварин дослідної групи характерні прояви пневмосклерозу, фіброзу, ускладнення трофіки та газообміну. Чітко спостерігається токсичний ефект накопичення гомоцистеїну з ознаками апоптозу ендотеліоцитів та некрозу у респіраторному відділі легень.
4. **Актуальність дослідження:** Хвороби органів дихання є надзвичайно розповсюдженою патологією в структурі захворюваності населення України та належать до глобальних проблем охорони здоров'я, насамперед унаслідок їх значної поширеності серед працездатного населення, постійного прогресування, частого поєднання різних патологій легень та обтяжливого впливу на супутні захворювання.

Найбільш поширені захворювання органів дихання серед дитячого населення. Вони є медико-соціальною проблемою, яка значною мірою визначає рівень дитячої захворюваності і малюкової смертності. Починаючись в дитинстві, бронхо-легенева патологія в ряді випадків призводить до інвалідності хворих у зрілому віці. Хвороби дихальної системи є також дуже поширеними

серед дорослого населення і займають друге місце після захворювань серця та судин.

Гіпергомоцистеїнемія на сьогоднішній день є одним із факторів ризику виникнення і прогресування бронхо-легеневої патології. Однак наразі в наукометричних базах даних існує обмежена кількість інформації з зазначеного питання, а дослідження стосовно закономірностей гістологічних змін органу при гіпергомоцистеїнемії у віковому аспекті не проводились, що і визначає важливість даної роботи.

5. Джерело інформації:

1. Samborska, I., Kovalchuk, O., Fagoonee, S., Kovalchuk, O., Fagoonee, S., Falalyeyeva, T., & Maievskiy, O. (2020). The Role of Hyperhomocysteinemia on the Development of Changes in the Lungs. *Rev Recent Clin Trials*, 15 (1), 48-59. DOI: 10.2174/1574887114666191114152235.

2. Samborska, I. A., Maievskiy, O. Y., Kovalchuk, O. I., & Ahafonov, K. M. (2020). Ultrastructural changes in the lungs of 1-2 months-old rats in the conditions of hyperhomocysteinemia. *World of Medicine and Biology*, 1 (71), 214-217. DOI:10.26724/2079-8334-2020-1-71-214-217.

6. Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра гістології та ембріології Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України.

7. Форма впровадження: в матеріали лекцій та практичних занять з гістології, цитології та ембріології для студентів медичного та стоматологічного факультетів та у наукову роботу кафедри.

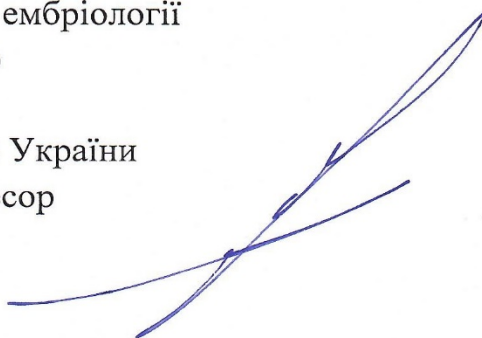
8. Соціально-економічний ефект: покращення підготовки молодих спеціалістів.

9. Термін впровадження: січень-лютий 2021 р.

10. Зауваження та пропозиції: немає.

11. Протокол засідання кафедри № 1 від 4 січня 2021 р.

Відповідальний за впровадження
Завідувач кафедри гістології та ембріології
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України
доктор біологічних наук, професор



З. М. Небесна

Додаток Б4

ЗАТВЕРДЖУЮ
 Проректор з наукової роботи
 Івано-Франківського національного
 медичного університету
 проф. І.П. Вакалюк

 _____ 2021 року



А К Т В П Р О В А Д Ж Е Н Н Я

Назва роботи: “ Морфологічні зміни в легенях щурів з гіпергомоцистеїнемією залежно від віку (експериментальне дослідження)”.

1. Автор: Самборська Інга Анатоліївна, асистент кафедри біологічної та загальної хімії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова.

2. Пропозиція до впровадження: При електронно-мікроскопічному дослідженні вперше доведено, що структурні зміни легень у статевонезрілих тварин на тлі гіпергомоцистеїнемії відбуваються в аерогематичному бар'єрі, які супроводжуються набряком респіраторного епітелію, що пов'язано з реактивними процесами в органі. У дорослих щурів при гіпергомоцистеїнемії відмічається значне звуження просвіту альвеол, формування аутофагосом (деградація білків з подальшим розвитком запальних процесів, індукуючих аутоімунну відповідь), спостерігається підвищена активність макрофагів та плазмоцитів (активація гуморальної ланки імунітету). Для старих тварин дослідної групи характерні прояви пневмосклерозу, фіброзу, ускладнення трофіки та газообміну. Чітко спостерігається токсичний ефект накопичення гомоцистеїну з ознаками апоптозу ендотеліоцитів та некрозу у респіраторному відділі легень.

Вперше при проведенні морфометричного аналізу ультраструктурних змін легень щурів виявлено прогресивне зростання площі альвеолоцитів II типу у статевонезрілих, дорослих і старих тварин як контрольної групи, так і групи щурів з гіпергомоцистеїнемією, із більш вираженими змінами у останніх.

Доведено, що у щурів контрольної групи динаміка показників кількості пластинчастих тілець у 1 альвеолоциті II типу, площі пластинчастого тільця, сумарної площі пластинчастих тілець у 1 альвеолоциті II типу, питомої площі пластинчастих тілець має однонаправлений характер та полягає у зменшенні відповідних показників у дорослих тварин та подальшому зростанні цих показників у старих тварин. Динаміка відповідних показників у щурів при гіпергомоцистеїнемії також має однонаправлений характер і полягає у стабільності їх у статевонезрілих та дорослих тварин із подальшим ростом у старих тварин. При чому вказані показники найбільш високі у старих тварин.

3. Актуальність дослідження: Хвороби органів дихання є надзвичайно розповсюдженою патологією в структурі захворюваності населення України та належать до глобальних проблем охорони здоров'я, насамперед унаслідок їх значної поширеності серед працездатного населення, постійного прогресування, частого поєднання різних патологій легень та обтяжливого впливу на супутні захворювання.

Найбільш поширені захворювання органів дихання серед дитячого населення. Вони є медико-соціальною проблемою, яка значною мірою визначає рівень дитячої захворюваності і малюкової смертності. Починаючись в дитинстві, бронхо-легенева патологія в ряді випадків призводить до інвалідності хворих у зрілому віці. Хвороби дихальної системи є також дуже поширеними серед дорослого населення і займають друге місце після захворювань серця та судин.

Гіпергомоцистеїнемія на сьогоднішній день є одним із факторів ризику виникнення і прогресування бронхо-легеневої патології. Однак наразі в наукометричних базах даних існує обмежена кількість інформації з зазначеного питання, а дослідження стосовно закономірностей гістологічних змін органу при гіпергомоцистеїнемії у віковому аспекті не проводились, що і визначає важливість даної роботи.

4. Установа-розробник: Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова.

5. Джерела інформації:

Samborska, I., Kovalchuk, O., Fagoonee, S., Kovalchuk, O., Fagoonee, S., Falalyeyeva, T., & Maievskiy, O. (2020). The Role of Hyperhomocysteinemia on the Development of Changes in the Lungs. *Rev Recent Clin Trials*, 15 (1), 48-59. DOI: 10.2174/1574887114666191114152235.

Samborska, I. A., Maievskiy, O. Y., Kovalchuk, O. I., & Ahafonov, K. M. (2020). Ultrastructural changes in the lungs of 1-2 months-old rats in the conditions of hyperhomocysteinemia. *World of Medicine and Biology*, 1 (71), 214-217. DOI:10.26724/2079-8334-2020-1-71-214-217.

6. Ким і коли впроваджено: кафедра гістології, цитології та ембріології Івано-Франківського національного медичного університету

Початок впровадження: січень 2021 р.

Протокол засідання кафедри №347 від 25.06.2021р.

7. Форма впровадження: результати дослідження впроваджено в навчальний процес та науково-дослідну роботу кафедри.

8. Соціально-економічний ефект: покращення підготовки молодих спеціалістів.

Завідувач кафедри гістології, цитології та ембріології
Івано-Франківського національного
медичного університету
д.мед.н., професор

С. Б. Герашченко

Додаток Б5

ЗАТВЕРДЖУЮ

Перший проректор
з науково-педагогічної роботи
Львівського національного медичного
університету імені Данила Галицького
проф. Гжегоцький М.Р.



2021 року

А К Т В П Р О В А Д Ж Е Н Н Я

Назва роботи: “Морфологічні зміни в легенях щурів з гіпергомоцистеїнемією залежно від віку (експериментальне дослідження)”.

1. Автор: Самборська Інга Анатоліївна, асистент кафедри біологічної та загальної хімії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова.

2. Пропозиція до впровадження: При електронно-мікроскопічному дослідженні вперше доведено, що структурні зміни легень у статевонезрілих тварин на тлі гіпергомоцистеїнемії відбуваються в аерогематичному бар'єрі, які супроводжуються набряком респіраторного епітелію, що пов'язано з реактивними процесами в органі. У дорослих щурів при гіпергомоцистеїнемії відмічається значне звуження просвіту альвеол, формування аутофагосом (деградація білків з подальшим розвитком запальних процесів, індукуючих аутоімунну відповідь), спостерігається підвищена активність макрофагів та плазмоцитів (активація гуморальної ланки імунітету). Для старих тварин дослідної групи характерні прояви пневмосклерозу, фіброзу, ускладнення трофіки та газообміну. Чітко спостерігається токсичний ефект накопичення гомоцистеїну з ознаками апоптозу ендотеліоцитів та некрозу у респіраторному відділі легень.

3. Актуальність дослідження: Хвороби органів дихання є надзвичайно розповсюдженою патологією в структурі захворюваності населення України та належать до глобальних проблем охорони здоров'я, насамперед унаслідок їх значної поширеності серед працездатного населення, постійного прогресування, частого поєднання різних патологій легень та обтяжливого впливу на супутні захворювання.

Найбільш поширені захворювання органів дихання серед дитячого населення. Вони є медико-соціальною проблемою, яка значною мірою визначає рівень дитячої захворюваності і малюкової смертності. Виникнення в дитинстві, бронхо-легеневої патології в ряді випадків призводить до інвалідності хворих у зрілому віці. Хвороби дихальної системи є також дуже поширеними серед дорослого населення і займають друге місце після захворювань серця та судин.

Гіпергомоцистеїнемія на сьогоднішній день є одним із факторів ризику виникнення і прогресування бронхо-легеневої патології. Однак наразі в наукометричних базах даних існує обмежена кількість інформації з зазначеного питання, а дослідження стосовно закономірностей гістологічних змін органа при

гіпергомоцистеїнемії у віковому аспекті не проводились, що і визначає важливість даної роботи.

4. Установа-розробник: Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова.

5. Джерела інформації:

Samborska, I., Kovalchuk, O., Fagoonee, S., Kovalchuk, O., Fagoonee, S., Falalyeyeva, T., & Maievskiy, O. (2020). The Role of Hyperhomocysteinemia on the Development of Changes in the Lungs. *Rev Recent Clin Trials*, 15 (1), 48-59. DOI: 10.2174/1574887114666191114152235.

Samborska, I. A., Maievskiy, O. Y., Kovalchuk, O. I., & Ahafonov, K. M. (2020). Ultrastructural changes in the lungs of 1-2 months-old rats in the conditions of hyperhomocysteinemia. *World of Medicine and Biology*, 1 (71), 214-217. DOI:10.26724/2079-8334-2020-1-71-214-217.

6. Ким і коли впроваджено: гістології, цитології та ембріології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького

Початок впровадження: травень 2021 р.

Протокол засідання кафедри № 10 від 20 травня 2021 р.

7. Форма впровадження: результати дослідження впроваджено у навчальний процес та лекційний курс.

8. Соціально-економічний ефект: покращення підготовки молодих спеціалістів.

Професор кафедри гістології, цитології та ембріології
Львівського національного медичного
університету імені Данила Галицького
лауреат Державної премії України в галузі науки і техніки,
д.мед.н., професор

 О. Д. Луцик

Додаток Б6

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з наукової роботи
Дніпровського державного
медичного університету

професор Гудар'ян О.О.

31 СЕРПНЯ 2021 року

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Назва роботи: “Морфологічні зміни в легенях щурів з гіпергомоцистеїнемією залежно від віку (експериментальне дослідження)”.

1. Автор: Самборська Інга Анатоліївна, асистент кафедри біологічної та загальної хімії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова.

2. Пропозиція до впровадження: При електронно-мікроскопічному дослідженні вперше доведено, що структурні зміни легень у статевонезрілих тварин на тлі гіпергомоцистеїнемії відбуваються в аерогематичному бар'єрі, які супроводжуються набряком респіраторного епітелію, що пов'язано з реактивними процесами в органі. У дорослих щурів при гіпергомоцистеїнемії відмічається значне звуження просвіту альвеол, формування аутофагосом (деградація білків з подальшим розвитком запальних процесів, індукуючих аутоімунну відповідь), спостерігається підвищена активність макрофагів та плазмоцитів (активація гуморальної ланки імунітету). Для старих тварин дослідної групи характерні прояви пневмосклерозу, фіброзу, ускладнення трофіки та газообміну. Чітко спостерігається токсичний ефект накопичення гомоцистеїну з ознаками апоптозу ендотеліоцитів та некрозу у респіраторному відділі легень.

Вперше при проведенні морфометричного аналізу ультраструктурних змін легень щурів виявлено прогресивне зростання площі альвеолоцитів II типу у статевонезрілих, дорослих і старих тварин як контрольної групи, так і групи щурів з гіпергомоцистеїнемією, із більш вираженими змінами у останніх.

Доведено, що у щурів контрольної групи динаміка показників кількості пластинчастих тілець у 1 альвеолоциті II типу, площі пластинчастого тільця, сумарної площі пластинчастих тілець у 1 альвеолоциті II типу, питомої площі пластинчастих тілець має однаковий характер та полягає у зменшенні відповідних показників у дорослих тварин та подальшому зростанні цих показників у старих тварин. Динаміка відповідних показників у щурів при гіпергомоцистеїнемії також має однаковий характер і полягає у стабільності їх у статевонезрілих та дорослих тварин із подальшим ростом у старих тварин. При чому вказані показники найбільш високі у старих тварин.

3. Актуальність дослідження: Хвороби органів дихання є надзвичайно розповсюдженою патологією в структурі захворюваності населення України та належать до глобальних проблем охорони здоров'я, насамперед унаслідок їх значної поширеності серед працездатного населення, постійного прогресування, частого поєднання різних патологій легень та обтяжливого впливу на супутні захворювання.

Найбільш поширені захворювання органів дихання серед дитячого населення. Вони є медико-соціальною проблемою, яка значною мірою визначає рівень дитячої захворюваності і малюкової смертності. Починаючись в дитинстві, бронхо-легенева патологія в ряді випадків призводить до інвалідності хворих у зрілому віці. Хвороби дихальної системи є також дуже поширеними серед дорослого населення і займають друге місце після захворювань серця та судин.

Гіпергомоцистеїнемія на сьогоднішній день є одним із факторів ризику виникнення і прогресування бронхо-легеневої патології. Однак наразі в наукометричних базах даних існує обмежена кількість інформації з зазначеного питання, а дослідження стосовно закономірностей гістологічних змін органу при гіпергомоцистеїнемії у віковому аспекті не проводились, що і визначає важливість даної роботи.

4. Установа-розробник: Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова.

5. Джерела інформації:

Samborska, I., Kovalchuk, O., Fagoonee, S., Kovalchuk, O., Fagoonee, S., Falalyeyeva, T., & Maievskiy, O. (2020). The Role of Hyperhomocysteinemia on the Development of Changes in the Lungs. *Rev Recent Clin Trials*, 15 (1), 48-59. DOI: 10.2174/1574887114666191114152235.

Samborska, I. A., Maievskiy, O. Y., Kovalchuk, O. I., & Ahafonov, K. M. (2020). Ultrastructural changes in the lungs of 1-2 months-old rats in the conditions of hyperhomocysteinemia. *World of Medicine and Biology*, 1 (71), 214-217. DOI:10.26724/2079-8334-2020-1-71-214-217.

6. Ким і коли впроваджено: кафедра гістології Дніпровського державного медичного університету.

Початок впровадження: 17.03.2021 р.

Протокол засідання кафедри № 1 від 31.08.2021 р.

7. Форма впровадження: результати дослідження впроваджено у навчальний процес та науково-дослідну роботу кафедри гістології.

8. Соціально-економічний ефект: покращення підготовки молодих спеціалістів.

06.09.2021 р.

Завідувач кафедри гістології
Дніпровського державного
медичного університету.
д.мед.н., професор



Твердохліб І.В.

поширеності серед працездатного населення, постійного прогресування, частого поєднання різних патологій легень та обтяжливого впливу на супутні захворювання.

Найбільш поширені захворювання органів дихання серед дитячого населення. Вони є медико-соціальною проблемою, яка значною мірою визначає рівень дитячої захворюваності і малюкової смертності. Починаючись в дитинстві, бронхо-легенева патологія в ряді випадків призводить до інвалідності хворих у зрілому віці. Хвороби дихальної системи є також дуже поширеними серед дорослого населення і займають друге місце після захворювань серця та судин.

Гіпергомоцистеїнемія на сьогоднішній день є одним із факторів ризику виникнення і прогресування бронхо-легеневої патології. Однак наразі в наукометричних базах даних існує обмежена кількість інформації з зазначеного питання, а дослідження стосовно закономірностей гістологічних змін органу при гіпергомоцистеїнемії у віковому аспекті не проводились, що і визначає важливість даної роботи.

4. Установа-розробник: Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова.

5. Джерела інформації:

Samborska, I., Kovalchuk, O., Fagoonee, S., Kovalchuk, O., Fagoonee, S., Falalyeyeva, T., & Maievskiy, O. (2020). The Role of Hyperhomocysteinemia on the Development of Changes in the Lungs. *Rev Recent Clin Trials*, 15 (1), 48-59. DOI: 10.2174/1574887114666191114152235.

Samborska, I. A., Maievskiy, O. Y., Kovalchuk, O. I., & Ahafonov, K. M. (2020). Ultrastructural changes in the lungs of 1-2 months-old rats in the conditions of hyperhomocysteinemia. *World of Medicine and Biology*, 1 (71), 214-217. DOI:10.26724/2079-8334-2020-1-71-214-217.

6. Ким і коли впроваджено: кафедра гістології та ембріології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця

Початок впровадження: лютий 2021 р.

Протокол засідання кафедри №1 від 25 серпня 2021р.

7. Форма впровадження: результати дослідження впроваджено у навчальний процес та лекційний курс.

8. Соціально-економічний ефект: покращення підготовки молодих спеціалістів.

Завідувач кафедри гістології та ембріології
Національного медичного університету
імені О. О. Богомольця
член-кореспондент НАМН України,
д.мед.н., професор



Ю. Б. Чайковский

Додаток Б8

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з науково-педагогічної
(навчальної) роботиВінницького національного
медичного університету
ім. М.І. Пирогова

проф. Гумінський Ю.Й.

2021 року

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** “ Морфологічні зміни в легенях щурів з гіпергомоцистеїнемією залежно від віку (експериментальне дослідження)”.

2. **Установа, її адреса, виконавці:** кафедра біологічної та загальної хімії Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова, 21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56, асистент Самборська Інга Анатоліївна.

3. **Джерела інформації:** Samborska, I. (2019). Features of microscopic changes in lung structure of young rats under conditions of hyperhomocysteinemia. *Reports of Morphology*, 25 (3), 5-9. DOI: 10.31393/morphology-journal-2019-25(3)-01.

Samborska, I. A., Maievskyi, O. Ye., & Nebesna, Z. M. (2019). Features of histological changes in the lungs of mature animals under conditions of hyperhomocysteinemia. *Biomedical and Biosocial Anthropology*, 37, 32-37. DOI: 10.31393/bba37-2019-05.

4. **Де і коли впроваджено:** кафедра гістології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова.

Початок впровадження: 31.08. 2021 р.

Протокол засідання кафедри № 1 від 31.08. 2021р.

5. **Форма впровадження:** результати дослідження впроваджено у навчальний процес та лекційний курс.

6. **Соціально-економічний ефект:** покращення підготовки молодих спеціалістів.

Завідувач кафедри гістології
Вінницького національного
медичного університету ім. М.І. Пирогова
к.мед.н., доцент

А.П. Король

Додаток Б9

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

В.о. проректора з науково-педагогічної роботи Одеського національного медичного університету,
Заслужений діяч науки і техніки України, д.мед.н., професор



Шандра О.А.

02 _____ 2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Назва роботи: “Морфологічні зміни в легенях щурів з гіпергомоцистеїнемією залежно від віку (експериментальне дослідження)”.

1. Автор: Самборська Інга Анатоліївна, асистент кафедри біологічної та загальної хімії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова.

2. Пропозиція до впровадження: Вперше при гістологічному дослідженні легень статевонезрілих тварин за умов гіпергомоцистеїнемії встановлені помірні деструктивні зміни судин, бронхів, компонентів респіраторного відділу, що спостерігаються на тлі набряків та гістолойкоцитарної інфільтрації; виявляються невеликі зони дис- та етелектазів, емфізематозного розширення. Виявлені зміни зворотні та мають пристосувально-компенсаторний характер.

У дорослих щурів за умов гіпергомоцистеїнемії встановлено пристосувально-компенсаторні та деструктивні зміни компонентів органу: значні площі дис- та ателектазів, емфізематозно змінені ділянки паренхіми; перибронхіально та паравазально визначаються формування запальних конгломератів, гісто- та лейкоцитарна інфільтрація.

Вперше доведено, що у тварин старого віку на фоні гіпергомоцистеїнемії розвиваються найбільш значні деструктивно-дегенеративні зміни, спостерігаються порушення стінок альвеол з виходом формених елементів крові в альвеолярний простір та утворення дрібних діapedезних крововиливів. Активація фібробластів проявляється вираженим колагенутворенням, яке зумовлює периваскулярний, перибронхіальний і інтерстиційний склероз, що чинить значний негативний вплив на процес газообміну в легенях.

3. Актуальність дослідження: Хвороби органів дихання є надзвичайно розповсюдженою патологією в структурі захворюваності населення України та належать до глобальних проблем охорони здоров'я, насамперед унаслідок їх значної поширеності серед працездатного населення, постійного прогресування,

частого поєднання різних патологій легень та обтяжливого впливу на супутні захворювання.

Найбільш поширені захворювання органів дихання серед дитячого населення. Вони є медико-соціальною проблемою, яка значною мірою визначає рівень дитячої захворюваності і малюкової смертності. Починаючись в дитинстві, бронхо-легенева патологія в ряді випадків призводить до інвалідності хворих у зрілому віці. Хвороби дихальної системи є також дуже поширеними серед дорослого населення і займають друге місце після захворювань серця та судин.

Гіпергомоцистеїнемія на сьогоднішній день є одним із факторів ризику виникнення і прогресування бронхо-легеневої патології. Однак наразі в наукометричних базах даних існує обмежена кількість інформації з зазначеного питання, а дослідження стосовно закономірностей гістологічних змін органу при гіпергомоцистеїнемії у віковому аспекті не проводились, що і визначає важливість даної роботи.

4. Установа-розробник: Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова.

5. Джерела інформації:

Samborska, I. (2019). Features of microscopic changes in lung structure of young rats under conditions of hyperhomocysteinemia. *Reports of Morphology*, 25 (3), 5-9. DOI: 10.31393/morphology-journal-2019-25(3)-01.

Samborska, I. A., Maievskyi, O. Ye., & Nebesna, Z. M. (2019). Features of histological changes in the lungs of mature animals under conditions of hyperhomocysteinemia. *Biomedical and Biosocial Anthropology*, 37, 32-37. DOI: 10.31393/bba37-2019-05.

6. Ким і коли впроваджено: гістології, цитології та ембріології Одеського національного медичного університету

Початок впровадження: _____ 2021 р.

Протокол засідання кафедри № 1 від 27. 08, 2021 р.

7. Форма впровадження: результати дослідження впроваджено у навчальний процес та лекційний курс.

8. Соціально-економічний ефект: покращення підготовки молодих спеціалістів.

Завідувач кафедри гістології, цитології та ембріології
Одеського національного
медичного університету,
к.мед.н., доцент



О.І. Тірон

Додаток Б10

«Затверджую»

Директор ННЦ

«Інститут біології та медицини»

Київського національного

університету імені Тараса Шевченка

Остапченко Л.І.



А К Т В П Р О В А Д Ж Е Н Н Я

Назва роботи: “Морфологічні зміни в легенях щурів з гіпергомоцистеїнемією залежно від віку (експериментальне дослідження)”.

1. Автор: Самборська Інга Анатоліївна, асистент кафедри біологічної та загальної хімії Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова.

2. Пропозиція до впровадження: При біохімічному дослідженні зразків крові та гомогенатів легень щурів різного віку при гіпергомоцистеїнемії вперше доведено розвиток окисного стресу, запальних процесів, перекисного окислення ліпідів, ендогенної інтоксикації та фіброзу, що підтверджується зростанням рівнів малонового діальдегіду, молекул середньої маси, карбонільних груп протеїнів, трансформуючого фактору росту β , а також зниженням вмісту супероксиддисмутази, загальних фосфоліпідів.

За умов гіпергомоцистеїнемії у щурів всіх вікових категорій спостерігається накопичення пептидів з низькою молекулярною масою, активацію протеолізу у вигляді підвищення загальної протеолітичної активності та надекспресії усіх досліджуваних матриксних металопротеїназ (матриксні металопротеїнази -1, 2, 3, 8 та 10), що доводить зсув протеолітичних процесів в бік гіперактивації.

3. Актуальність дослідження: Хвороби органів дихання є надзвичайно розповсюдженою патологією в структурі захворюваності населення України та належать до глобальних проблем охорони здоров'я, насамперед унаслідок їх значної поширеності серед працездатного населення, постійного прогресування, частого поєднання різних патологій легень та обтяжливого впливу на супутні захворювання.

Найбільш поширені захворювання органів дихання серед дитячого населення. Вони є медико-соціальною проблемою, яка значною мірою визначає рівень дитячої захворюваності і малюкової смертності. Починаючись в дитинстві, бронхо-легенева патологія в ряді випадків призводить до інвалідності хворих у зрілому віці. Хвороби дихальної системи є також дуже поширеними серед дорослого населення і займають друге місце після захворювань серця та судин.

Гіпергомоцистеїнемія на сьогоднішній день є одним із факторів ризику виникнення і прогресування бронхо-легеневої патології. Однак наразі в наукометричних базах даних існує обмежена кількість інформації з зазначеного питання, а дослідження стосовно

закономірностей гістологічних змін органу при гіпергомоцистеїнемії у віковому аспекті не проводились, що і визначає важливість даної роботи.

4. Установа-розробник: Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова.

5. Джерела інформації:

The role of hyperhomocysteinemia in the development of changes in the lungs / I. Samborska, O. Kovalchuk, S. Fagoonee, T. Falalyeyeva, O. Maievskiy // Reviews on recent clinical trials. – 2020. – Vol. 15, Issue 1. – P. 48-59.

Protein-peptide composition in the lungs of rats with hyperhomocysteinemia / N. Raksha, T. Halenova, T. Vovk, O. Kharchenko, O. Savchuk, I. Samborska, N. Zaichko, L. Ostapchenko, O. Maievskiy // Journal of Biological Research – Bollettino della Società Italiana di Biologica Sperimentale. – 2021. <https://doi.org/10.4081/jbr.2021.9858>

6. Ким і коли впроваджено: кафедра біохімії ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка

Початок впровадження: березень 2021 р.

Протокол засідання кафедри № 1 від 06.09 2021р.

7. Форма впровадження: результати дослідження впроваджено у навчальний процес та лекційний курс.

8. Соціально-економічний ефект: покращення підготовки молодих спеціалістів.

Завідувач кафедри біохімії
ННЦ «Інститут біології та медицини»
Київського національного університету
імені Тараса Шевченка
д.біол.н., професор



О. М. Савчук