

UOT: 611.08; 611.233; 616-002

“MAKROFAQ MİQRASIYASI İNHİBİTORU FAKTORU” (MİF) İNYEKSİYASINDAN SONRA AĞ SIÇOVUL BRONX ŞƏBƏKƏSİNDƏ MORFOLOJİ DƏYİŞİKLİKLƏRİN DİNAMİKASI

¹Əliyarbəyova A.Ə., ²Həsənov İ.Ə

¹Azərbaycan İBB Universiteti, Sitologiya, embriologiya və histologiya kafedrası

²“Ozon” Tibb Mərkəzi

¹Müəssisənin ünvanı: AZ 1022 Azərbaycan, Bakı şəhəri, Ə.Qasımlı küçəsi 14

Əliyarbəyova A.Ə. Elektron poçt ünvanı: alyarbayova@gmail.com

²Müəssisənin ünvanı: Gəncə şəhəri, 20 Yanvar küçəsi 141

Həsənov İ.Ə Elektron poçt ünvanı: ihasanov61@gmail.com

Açar sözlər: *bronx, makrofaq miqrasiyası inhibitoru faktoru, patomorfologiya, ağ siçovul*

Giriş. “Makrofaq miqrasiyası inhibitoru faktoru” (MİF) – geniş fizioloji təsir diapozonlu, daha çox - iltihabyönümlü sitokinlərə aiddir. Bir sıra orqanlarda MİF ekspresiyası və MİF inyeksiyasından sonrakı dəyişikliklər öyrənilmişdir. MİF-in astma və ağciyər obstruktiv xəstəliklərində patogenetik rolu ehtimal edilsə də, nəinki klinik şəraitdə, hətta eksperimentdə belə bu sitokin inyeksiyasının tənəffüs sisteminin havadaşıyıcı və respirator morfo-funksional şöbələrində törətdiyi dəyişikliklər hələlilik səthi araşdırılmışdır [1,2]. Bu, xüsusən də - tənəffüs sistemi bir çox patologiya modellərinin obyektı olan ağ siçovullara aiddir. Belə ki, onların ağciyərdaxili bronxlar şəbəkəsinin təşkilinə və histoloji quruluşuna dair məlumatlar ziddiyyətlidir. Müxtəlif pilləli bronxial şaxələrin toxuma-hüceyrə elementləri və morfometrik göstəriciləri də sistemləşdirilməmişdir. Bundan başqa, ağ siçovulda respirator bronxiolların mövcudluğu məsələsində də ümumi qəbul olunmuş yanaşma yoxdur [3, 4,5]. Ağ siçovullarda MİF inyeksiyasından sonra bronx şəbəkəsinin müxtəlif təşkil pillələrində histoloji və elektron-mikroskopik xüsusiyyətləri isə tədqiq edilməmişdir [6,7].

Tədqiqatın məqsədi ağ siçovullarda “makrofaq miqrasiyası inhibitoru faktoru” (MİF) venadaxili inyeksiyasından sonra ağciyərlərdaxili bronx şəbəkəsinin morfoloji

dəyişikliklərini dinamikada öyrənmək olmuşdur.

Tədqiqatın materialları və metodları. Tədqiqat seleksiya xətti bilinməyən, 200-250 qramlıq 60 yaş yetkin erkək ağ laborator siçovulda icra edilmişdir. Heyvanlar aşağıdakı qruplara bölünmüşdür: I. “intakt” - 12; II. “plasebo” (müqayisə; 0,3 ml steril fizioloji məhlul inyeksiyası) – 12; III “əsas” – 36 siçovul. Əsas qrupda 0,3 ml fizioloji məhlulda 1,39 mikroqram MİF (ProSpec (Protein-Specialists) CYT-193, Ness-Ziona, Israel) həll edilərək quyruq venasına inyeksiya olunmuşdur. Siçovullar qarın boşluğuna ketamin məhlulu yeridilməklə narkozdan sonra dekapiasiya edilmişdir. Sağ ağciyərdə 4 paydan, sol ağciyərdə isə qapı ətrafından və periferik zondan inyeksiyadan 2 saat, 2, 3, 7, 15 və 30 gün sonra tikələr götürülmüşdür. Eksperimentin icrasında onurğalı təcrübə heyvanları ilə davranışa dair Avropa Birliyi Konvensiyası tələblərinə riayət edilmişdir [8,9]. Fiksasiya üçün histoloji təhlillərdə 4,0%-li buferli neytral formalin, elektron-mikroskopik analizdə isə - buferli 2,5%-li qlutaraldehyd + 2%-li paraformaldehid + 4%-li qlükoza + 0,1%-li pikrin turşusu qarışığı istifadə edilmişdir. Parafin bloklarının mikrotom kəsikləri hematoksilin-eozin və pikrofuksin-hematoksilin boyaları ilə boyanmışdır. Araldit-epon bloklarının

yarımnazik (0,5-1,0 mkm) və ultranazik (50-60 nm) kəsikləri isə elektron-mikroskopik təhlillər üçün qəbul olunmuş boyaqlarla və rejimlə işlənmişdir. Histoloji preparatlar "Axiocam ERc5s" videokameralı "Axio Scope A14 (Carl Zeiss)" mikroskopunda stereometrik rejimdə, kontrastlaşdırılmış ultranazik kəsiklər isə JEM-1400 transmission elektron mikroskopunda (Yaponiya) 80,0kv gərginlikdə yerinə yetirilmişdir. Histoloji və elektron-mikroskopik analizlərin icrasında və nəticələrinin şərhində müvafiq rəhbərliklər və tövsiyələr əsas götürülmüşdür [10,11,12].

Tədqiqatın nəticələri və onların muzakirəsi. İntakt ağ siçovulda orqandaxili bronx şəbəkəsi bir neçə pillədə şaxələnməmişdir. Bunlardan ilk iki pilləni iri və orta bronxlara, 3-cü pilləni (generasiyanı) kiçik bronxlara, 4-cü pilləni isə - terminal (uc) bronxlara aid etmişik ki, bu qənaətimiz də digər tədqiqatların nəticələri ilə üst-üstə düşür [2]. Respirator bronxiolları dəqiq izləmək mümkün olmur, güman ki, siçovulda terminal bronxlar alveol yolları ilə qurtarır. Bununla belə, bəzi müəlliflər terminal bronxlardan sonra "tənəffüs bronxları" mövcudluğunu və bunların respirator bronxiollara uyğunluğunu ehtimal edirlər [3,7]. Mənfəz döşəmə epitelı təkqatlı kubşəkilli kirpikli-sekretor xarakterdədir. Şaxələnmə boyunca kirpikli hüceyrələrin miqdarı tədricən azalsa da hətta terminal bronxlarda belə qalır. Klara tipli sekretor hüceyrələrin isə miqdarı, əksinə, tədricən artır. Qədəhəbənzər selik hüceyrələri (goblet cells) baş bronxlarda və onların 1-ci generasiya şaxələlərində tək-tək izlənir, ancaq orta, kiçik və terminal bronxlarda tapılmır. Bronx şaxələnməsi boyunca epitel daxilində limfositlər və dendritik antigen təqdim edən hüceyrələr də müşahidə olunur; bunların rastgəlmə tezliyi bronx şaxələnməsi boyunca tədrici artım göstərir. Baş bronxların iri şaxələri divarında, tək-tək də olsa, selik vəziləri aşkarlanır, ancaq kiçik və terminal bronxlarda bu vəzilər faktik yoxdur. Bununla belə, kriptaları xatırladan çoxsaylı epitel бүküsləri

(invaginasiyaları) izlənir ki, bunların da döşəməsi əksərən sekretor (Klara) hüceyrələrindən ibarətdir.

Müqayisə (plasebo) qrupunda intakt histoloji və elektron-mikroskopik şəkil əsasən saxlanmış olsa da, eksperimentin 2-3-cü günlərində bronx şəbəkəsi mənfəzində selik-detrit kütlələri qismən artmışdır.

Əsas qrupda bronx şəbəkəsinin mikroskopik quruluş və kəmiyyət dəyişiklikləri daha qabarıq, bəzi hallarda isə - prinsipial xarakterdədir. MİF inyeksiyasından sonra bronx şəbəkəsi mərhələli morfoloji dəyişikliklərə uğrayır. Daha intensiv (maksimal) dəyişikliklər terminal (4-cü generasiya) bronxların divarında, nisbətən zəif dəyişikliklər isə - iri və orta diametrli (1-3-cü generasiya) bronxlarda qeyd edilir. Kiçik diametrli və terminal bronxların dəyişiklikləri artıq 2-ci saatda müşahidə olunur, 2-ci gündə - güclənir, 3-cü gündə isə - maksimuma çatır. Sonrakı 3-7-ci günlərdə qeyd edilən bronxlarda alterativ dəyişikliklərin intensivliyi tədricən azalır, ancaq döşəmə epitelində proliferasiya və divarətrafi zonaların limfoid-faqosit infiltrasiyası, əksinə - xeyli güclənir. İnyeksiyadan sonrakı 2-3-cü günlərdə mənfəz divar miositləri yığılması (təqəllüsü) hesabına daralır, üstəlik də - selik-detrit kütləsi ilə əhəmiyyətli dərəcədə qapanır. Mənfəz daralması və qapanması inyeksiyadan sonrakı 15-ci günə qədər davam edir (cədvəl 1).

Eksperimentin ilk 3 günündə ekzogen MİF-in terminal (4-cü generasiya) bronxlarda sekretor (Klara) hüceyrələri fəallaşdırmasının, kirpikli epitelı isə alterativ-destruktiv dəyişikliklərə uğratmasının histoloji və elektron-mikroskopik əlamətləri aşkarlanmışdır.

Xüsusi qeyd edirik ki, nə orta, nə də kiçik diametrli bronxlarda göstərilən hüceyrə differonlarında əhəmiyyətli kəmiyyət dəyişiklikləri qeyd edilməmişdir. Bununla bərabər, MİF inyeksiyasından sonra bronx şəbəkəsi döşəməsində və seliyində limfoid hüceyrələrin, makrofaqların və eozinofil leykositlərin sıxlığı müəyyən qədər artır.

Cədvəl.

Eksperiment gedişində ağ siçovullarda kiçik bronxların və terminal bronxların mənfəz diametri ($M \pm m$; $P=0,95$)

Eksperiment qrupları	Göstərici			
	Kiçik bronxların diametri (mkm)		Terminal (uc) bronxların diametri (mkm)	
İntakt	289,8±24,9		271,5±20,2	
Müşahidə günləri	3-cü	15-ci	3-cü	15-ci
Plasebo (müqayisə; steril fizioloji məhlul inyeksiyası)	286,5±22,2	287,3±19,5	269,1±18,5	272,6±23,5
Əsas (MİF inyeksiyası)	234,6±21,1	267,8±19,3	223,5±17,8*	254,1±19,7

İri diametrli (1-2-ci generasiya) bronxlar üçün də göstərilən dinamika səciyyəvidir. Bunlarda da dəyişikliklər (kirpikli epitel qopması, selik hipersekresiyası, mənfəzdə selik-detrit yığılması, divarda miosit təqəllüsü və s.) inyeksiyadan sonra 2-ci gündən izlənməyə başlasa da, maksimal səviyyə 3-7-ci günlərdə qeyd olunur. Həm bronxların, həm də peri-bronxial damarların miositlərində və adventisiya hüceyrələrində izlənen dəyişikliklər güman etməyə əsas verir ki, qeyd edilən hüceyrə differonları da MİF hədəfləri sırasındadır; ancaq bu mülahizəmizin dəqiqləşdirilməsi üçün xüsusi araşdırmalar zəruridir. Ehtimal edirik ki, eksperimentin 15-ci gününə qədər ultrastruktur səviyyədə bronxətrafı fibroz başlanır, 15-ci gün nümunələrində qeyd edilən fibroz artıq işıq-mikroskopik olaraq da müşahidə olunmağa başlayır, 30-cu gündə isə - aydın (son, definitiv) morfoloji şəkil alır.

Vacib cəhət kimi qeyd edirik ki, MİF əleyhinə əks-cisimlərlə (anti-MİF antibody) bronx şəbəkəsində hiperreaktivlik və selik hipersekresiyası təzahürlərinin eksperimentdə əhəmiyyətli dərəcədə aradan qaldırılmasına dair məlumatlar vardır [13,14,15]. Bu, bir daha təsdiq edir ki, ağ siçovul bronx şəbəkəsində MİF iltihabı və postinflammator fibozu gücləndirən bioaktiv substratdır.

Yekun. Beləliklə, MİF inyeksiyası ağ siçovullarda bronx şəbəkəsinin mərhələli morfoloji dəyişikliklərini şərtləndirir. MİF inyek-

siyasından sonrakı 2 saat - 2 gündə kirpikli epitel qopması, selik-detrit kütləsi ilə mənfəz mozaik qapanması və divarda saya əzələ təqəllüsü, 3-7-ci günlərdə - bronx epitelinin tədrici bərpası, mənfəz təmizlənməsi, əzələ təqəllüsünün zəifləməsi və bronx ətrafında artan limfoid-faqosit infiltrasiya, 15-ci gündən sonra isə - bronxətrafı fibroz əlamətləri üstündür.

Tədqiqatın nəticələri eksperimentdə ağciyərlərdə allergiya, astma, müxtəlif patogenli iltihablar, bronxospazm və pulmonar fibrozun morfoloji qiymətləndirilməsində nəzərə alınə bilər

Ədəbiyyat siyahısı

- Rossi A.G. Human circulating eosinophils secrete macrophage migration inhibitory factor (MIF). Potential role in asthma / A.G. Rossi, C.Haslett, N.Hirani [et al.] // J. Clin. Invest., – 1998/ Jun 15; 101(12), – p. 2869–2874. doi: 10.1172/JCII524.
- Bergwik J. A novel quinoline with airway relaxant effects and anti-inflammatory properties / J.Bergwik, J.Liu, M.Padra [et al.] / Respiratory Research – 2024. 25, – p. 146 doi: 10.1186/s12931-024-02780-8
- Зиновьев С.В. Стрессорное легкое крыс как экспериментальная модель легочной гипертензии и гиперемии / С.В.Зиновьев, С.С.Целуйко, С.С.Селиверстов [и др.] // Бюллетень физиологии и патологии дыхания, – 2018, №67, – с. 102-110.

4. Tanner L., Single A.B. Animal models reflecting chronic obstructive pulmonary disease and related respiratory disorders: translating pre-clinical data into clinical relevance // *Journal of Innate Immunity*, – 2020. 12(3), – p. 203-225. doi: 10.1159/000502489.
5. Farrell L.A. The Current Molecular and Cellular Landscape of Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD): A Review of Therapies and Efforts towards Personalized Treatment / L.A.Farrell, M.B.O'Rourke, M.P.Padula [et al.] // *Proteomes* – 2024. 12, – p. 23. doi: 10.3390/proteomes12030023
6. Wright J.L., Cosio M., Churg A. Animal models of chronic obstructive pulmonary disease. // *Amer. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* – 2008, 295(1), – p. 1–15. doi: 10.1152/ajplung.90200.2008.
7. Каргопольцева Д.Р.; Особенности дыхательной системы животных, используемых в доклинических исследованиях, которые необходимо учитывать при моделировании патологий легких / Д.Р.Каргопольцева, А.Е.Кательникова, К.Л.Крышень, [и др.]// *Лабораторные животные для научных исследований*. – 2020. 4, – p. 71–85. doi: 10/29926/2618723X-2020-04-08
8. Directive of the European Parliament and of the Council on the protection of animals used for scientific purposes. 2010/63/EU of 22 September 2010.
9. National Competent Authorities for the implementation of Directive 2010/63/EU on the protection of animals used for scientific purposes. Working document on a severity assessment framework. Brussels. 11-12 July 2012.
10. Dey P. Basic and Advanced Laboratory Techniques in Histopathology and Cytology / P.Dey, – Singapore; Springer, – 2018, – 275 p.
11. Kuo J. Electron microscopy: methods and protocols / – J.Kuo – Tokyo: Humana Press, – 2007, –625 p.
12. <https://medstatistic.ru/index.php>.
13. Amano T., Nishihira J., Miki I. Blockade of macrophage migration inhibitory factor (MIF) prevents the antigen-induced response in a murine model of allergic airway inflammation // *Inflammation Research*, – 2007, 56, – p. 24-31. doi:10.1007/s00011-007-5184-9.
14. Upadhyay P.; Animal Models and Mechanisms of Tobacco Smoke-induced Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) / P.Upadhyay, W.Ching-Wen, A.Pham // *J Toxicol Environ Health B Crit Rev.* – 2023. July 04; 26(5); – p. 275–305. doi:10.1080/10937404.2023.2208886.
15. Wei K. Differences in Airway Remodeling and Emphysematous Lesions between Rats Exposed to Smoke from New-Type and Conventional Tobacco Varieties / K.;Wei, Y.Li, B.;Du [et al.] // *Antioxidants* 2024, 13, 511. doi:10.3390/antiox13050511

РЕЗЮМЕ

ДИНАМИКА МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В СЕТИ БРОНХОВ БЕЛЫХ КРЫС ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ «ФАКТОРА ИНГИБИТОРА МИГРАЦИИ МАКРОФАГОВ» (МИФ)

¹Алиярбекова Айгюн Алияр кызы, ²Гасанов Ильгар Алихан оглы

¹Азербайджанский медицинский университет. Кафедра цитологии, эмбриологии и гистологии

²Медицинский центр «Озон». Баку, Азербайджан

МИФ как провоспалительный плейотропный цитокин, иммуномодулятор, иммунорегулятор, участвует в механизмах иммунной защиты, особенно - в приобретенном иммунном ответе и экспрессируется во многих органах и структурах организма. Роль МИФ в патогенезе острых и хронических obstructивных заболеваний легких вероятна, хотя в условиях клиники и эксперимента она изучена поверхностно.

С учетом вышеизложенного, целью настоящего исследования явилось сравнительное гистологическое и электронно-микроскопическое изучение структуры внутрилегочной бронхиальной сети и ее изменений в норме, в динамике при плацебо (инъекция физиологического раствора) и внутривенной инъекции раствора МИФ.

Исследования выполнены на 60 белых лабораторных половозрелых крысах-самцах массой 200-250 грамм, содержащихся в беспатогенной среде на стандартном рационе и водных условиях в Научно-исследовательском Центре Азербайджанского Медицинского Университета. Кусочки легких

изучены гистологически и электронно-микроскопически. Количественные показатели обработаны вариационной статистикой ($M \pm m$; $P=0,95$; $p<0,05$).

Установлено, что бронхиальное разветвление у интактной белой крысы характеризуется 4-мя ступенями (уровнями, генерациями). Завершающей генерацией является сеть терминальных (конечных) мелких бронхов. Вопрос о респираторных бронхиолах у белой крысы остается открытым, уточнение которого требует специального исследования. Выявлено, что морфологические изменения бронхиальной сети подопытных животных основной группы протекают поэтапно: повреждение (альтерация) – постепенное восстановление (репарация) – перибронхиальный фиброз. Альтеративные изменения охватывают примерно первые два часа – два дня. Затем в 3-7 сутки наступает постепенное восстановление стеночной структуры и санация просвета бронхиальной сети. В последующем формируется перибронхиальный фиброз, который становится достаточно заметным к 15-м суткам и достигает максимума к 30-му дню.

Результаты экспериментальных исследований могут стать морфологической основой нового подхода к патогенетическому значению МИФ, клеток - МИФ продуцентов и МИФ-мишеней в патологических процессах легких, особенно - при обструктивных заболеваниях, сопровождающихся ремоделированием дыхательных путей

Ключевые слова: *фактор ингибитора миграции макрофагов, воспаление, патоморфология, белая крыса*

SUMMARY

DYNAMICS OF MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE BRONCHIAL NETWORK OF WHITE RATS AFTER ADMINISTRATION OF "MACROPHAGE MIGRATION INHIBITOR FACTOR" (MIF)

¹Aliyarbeyova Aygun Aliyar, ²Hasanov Ilgar Alikhan

¹Azerbaijan Medical University. Department of Cytology, Embryology and Histology

²Medical Center "Ozone" Baku, Azerbaijan

MIF as a pleiotropic cytokine, immunomodulator, immunoregulator, participates in the mechanisms of immune defense, especially in the acquired immune response and is expressed in many organs and structures of the body. Its role in the pathogenesis of acute and chronic obstructive pulmonary diseases is probable, although it has been studied superficially in the experiment.

The studies were conducted on 60 adult white male laboratory rats weighing 200-250 grams, kept in a pathogen-free environment on a standard diet and water conditions in the Research Center of the AMU. The aim of the study was a comparative study the structure of the intrapulmonary bronchial network, its cellular composition and changes in dynamics in the intact (normal), comparison (placebo, injection of saline) and main group after injection of "Macrophage migration inhibitory factor" (MIF) at the histological and electron microscopic level.

It was established that the morphological changes detected in the bronchial network of the experimental animals of the main group are gradual. Thus, the changes determined by the intrapulmonary bronchial network in the first 2 hours after intravenous administration of MIF persist for up to 2 days. These morphological changes are gradually replaced by recovery in the next 3-7 days. The signs of fibrosis detected on the 15th day in the peribronchial zone attract more noticeable attention in the following days.

The results of experimental studies can become the morphological basis for a new approach to the pathogenetic significance of MIF and its expressing cells in pathological processes of the lungs, especially in obstructive diseases observed on airway remodeling.

Key words: *Macrophage Migration Inhibitor Factor, inflammation, pathomorphology, white rat*