Азизова Феруза Хусановна – д.м.н., профессор
Ташкентский государственный медицинский университет (Ташкент, Узбекистан)
Тулабоев Суннатулла Олимжонович – старший преподаватель
Жураева Феруза Хусановна – ассистент
Рустамова Юлдуз Алишеровна – ассистент
Чирчикский филиал Ташкентского государственного медицинского университета (Ташкент, Узбекистан)

ПОСТНАТАЛЬНАЯ ДИНАМИКА МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СТЕНКИ БРОНХОВ И ЛИМФОИДНОЙ ТКАНИ ПОТОМСТВА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ВОЗДЕЙСТВИИ НА МАТЬ ЗАГРЯЗНЯЮЩИХ ВЕЩЕСТВ АТМОСФЕРНОГО ВОЗДУХА

Аннотация: *Цель: оценить постнатальную динамику морфометрических показателей слизистой оболочки бронхов, эпителия и бронх-ассоциированной лимфоидной ткани (BALT) потомства при хроническом воздействии на мать загрязняющих веществ атмосферного воздуха. Материал и методы: дыхательные пути потомства беспородных белых крыс изучены в трёх группах (контроль — воздух, очищенный HEPA-фильтрами; эксперимент 1 — обычный городской воздух; эксперимент 2 — искусственно загрязнённый воздух) на 7-е, 14-е, 21-е и 30-е сутки постнатального развития. На срезах, окрашенных гематоксилином и эозином, измерены пять показателей. Единицей анализа служило животное (n = 8 в каждой группе на каждый срок). Результаты: толщина слизистой оболочки оказалась наиболее чувствительным к воздушной среде показателем: в эксперименте 2 она превышала контрольные значения в 2,8–4,5 раза, в эксперименте 1 — на 43–71 % (во всех 12 парных сравнениях p < 0,001 с поправкой Холма; частный η^2 фактора воздушной среды = 0,98). Высота эпителия в эксперименте 2 была на 11–24 % выше, чем в контроле (p ≤ 0,021 с поправкой Холма), тогда как в эксперименте 1 достоверное различие выявлено только на 21-е сутки. Размеры и число лимфоидных фолликулов определялись преимущественно возрастом; межгрупповое различие обнаружено лишь на 14-е сутки и только между контролем и экспериментом 2. Заключение: толщина слизистой оболочки является наиболее чувствительным морфометрическим показателем воздействия загрязнённого воздуха, при этом эффект носит градиентный характер и зависит от степени загрязнения. Каждое воздушное условие моделировалось в отдельном помещении, поэтому влияние помещения нельзя отделить от влияния воздуха.*

Ключевые слова: *загрязнение воздуха, слизистая оболочка бронхов, бронх-ассоциированная лимфоидная ткань, морфометрия, постнатальное развитие, крысиная модель.*

Azizova Feruza Xusanovna – t.f.d., professor
Toshkent davlat tibbiyot universiteti (Toshkent, O‘zbekiston)
To‘laboyev Sunnatulla Olimjonovich – katta o‘qituvchi
Jo‘rayeva Feruza Xusanovna – assistent
Rustamova Yulduz Alisherovna – assistent
Toshkent davlat tibbiyot universiteti Chirchiq filiali (Toshkent, O‘zbekiston)

ONA ORGANIZMIGA ATMOSFERA HAVOSINI IFLOSLANTIRUVCHI MODDALARNING SURUNKALI TA’SIRIDA NASL BRONXLARI DEVORI VA LIMFOID TO‘QIMASI MORFOMETRIK KO‘RSATKICHLARINING POSTNATAL DINAMIKASI

Annotatsiya: *Maqsad: atmosfera havosini ifloslantiruvchi moddalarning ona organizmiga surunkali ta’sirida nasl bronxlari shilliq pardasi, epiteliysi va bronx bilan bog‘liq limfoid to‘qima (BALT) morfometrik ko‘rsatkichlarining postnatal dinamikasini baholash. Material va usullar: zotsiz oq kalamushlar nasli nafas yo‘llari uch guruhda (nazorat — HEPA-filtrlar bilan tozalangan havo; 1-tajriba — oddiy shahar havosi; 2-tajriba — sun’iy ifloslantirilgan havo) postnatal rivojlanishning 7-, 14-, 21- va 30-kunlarida o‘rganildi. Gematoksilin-eozin bilan bo‘yalgan kesmalarda beshta ko‘rsatkich o‘lchandi. Tahlil birligi — hayvon (har bir guruhda har bir muddatda n = 8). Natijalar: shilliq parda qalinligi havo muhitiga eng sezgir ko‘rsatkich bo‘ldi: 2-tajribada u nazorat qiymatlaridan 2,8–4,5 marta, 1-tajribada 43–71 % yuqori edi (Holm tuzatishi bilan barcha 12 juftlik taqqoslashda p < 0,001; havo muhiti omilining qisman η^2 = 0,98). Epiteliy balandligi 2-tajribada nazoratga nisbatan 11–24 % yuqori bo‘ldi (Holm tuzatishi bilan p ≤ 0,021), 1-tajribada esa ishonchli farq faqat 21-kunda aniqlandi. Limfoid follikullar o‘lchami va soni asosan yoshga bog‘liq edi; guruhlararo farq faqat 14-kunda va faqat nazorat bilan 2-tajriba o‘rtasida topildi. Xulosa: shilliq parda qalinligi ifloslangan havo ta’sirining eng sezgir morfometrik ko‘rsatkichi bo‘lib, o‘zgarish ifloslanish darajasiga bog‘liq gradient xarakteriga ega. Har bir havo sharoiti alohida xonada yaratilgani sababli xonaning ta’sirini havo ta’siridan ajratib bo‘lmaydi.*

Kalit so‘zlar: *havo ifloslanishi, bronxlar shilliq pardasi, bronx bilan bog‘liq limfoid to‘qima, morfometriya, postnatal rivojlanish, kalamush modeli.*

Azizova Feruza Khusanovna – D.M.Sc., professor
Tashkent State Medical University (Tashkent, Uzbekistan)
Tulaboev Sunnatulla Olimjonovich – senior lecturer
Juraeva Feruza Khusanovna – assistant
Rustamova Yulduz Alisherovna – assistant
Chirchik Branch of Tashkent State Medical University (Tashkent, Uzbekistan)

POSTNATAL DYNAMICS OF MORPHOMETRIC PARAMETERS OF THE BRONCHIAL WALL AND LYMPHOID TISSUE IN THE OFFSPRING UNDER CHRONIC MATERNAL EXPOSURE TO AMBIENT AIR POLLUTANTS

Abstract: *Aim: to evaluate the postnatal dynamics of morphometric parameters of the bronchial mucosa, epithelium and bronchus-associated lymphoid tissue (BALT) in the offspring under chronic maternal exposure to ambient air pollutants. Materials and methods: the airways of outbred white rat offspring were studied in three groups (control — HEPA-filtered air; experiment 1 — ordinary urban air; experiment 2 — artificially polluted air) on postnatal days 7, 14, 21 and 30. Five parameters were measured on haematoxylin-and-eosin-stained sections. The unit of analysis was the animal (n = 8 per group at each time point). Results: mucosal thickness was the parameter most sensitive to the air environment: in experiment 2 it exceeded control values 2.8–4.5-fold and in experiment 1 by 43–71 % ($p < 0.001$ after Holm correction in all 12 pairwise comparisons; partial η^2 of the air-environment factor = 0.98). Epithelial height in experiment 2 was 11–24 % higher than in controls ($p \leq 0.021$ after Holm correction), whereas in experiment 1 a significant difference was found only on day 21. The size and number of lymphoid follicles were determined mainly by age; a between-group difference was found only on day 14 and only between control and experiment 2. Conclusion: mucosal thickness is the most sensitive morphometric indicator of exposure to polluted air, and the effect shows a gradient depending on the degree of pollution. Because each air condition was created in a separate room, the effect of the room cannot be separated from that of the air.*

Keywords: *air pollution; bronchial mucosa; bronchus-associated lymphoid tissue; morphometry; postnatal development; rat model.*

Введение.

Загрязнение атмосферного воздуха всё чаще рассматривается как фактор риска, неблагоприятно влияющий на развитие органов потомства. Ситуация с качеством воздуха в Ташкенте также признана неудовлетворительной в международных оценках. Развивающийся организм более чувствителен к действию загрязняющих веществ, чем организм взрослого, поэтому воздействие на мать в период беременности и лактации может влиять на развитие дыхательных путей потомства.

Бронх-ассоциированная лимфоидная ткань (BALT), расположенная в стенке дыхательных путей, играет важную роль в местной иммунной защите. У крысы она начинает формироваться уже в первые недели постнатальной жизни, и её объём увеличивается с возрастом. Вместе с тем сама стенка бронха (слизистая оболочка, эпителий) в первую очередь подвергается воздействию внешней среды, однако постнатальная морфометрическая динамика этих структур в условиях хронического воздействия на мать изучена недостаточно. В нашей предыдущей статье на этой модели были освещены иммуногистохимические особенности BALT [7]; в настоящей работе представлены количественные (морфометрические) показатели стенки бронха и лимфоидных фолликулов.

Цель исследования:

Оценить постнатальную динамику толщины слизистой оболочки бронхов, высоты эпителия, а также размеров и числа лимфоидных фолликулов потомства при хроническом воздействии на мать загрязняющих веществ воздуха в трёх различных воздушных средах.

Методы исследования.

Исследование проведено на базе кафедры гистологии и медицинской биологии № 1 Ташкентского государственного медицинского университета как экспериментальное исследование поперечного (cross-sectional) дизайна с тремя параллельными группами. Контрольная группа — потомство крыс, содержавшихся в помещении, оборудованном HEPA-фильтрами; группа эксперимента 1 — в обычном лабораторном помещении в условиях естественного городского воздуха; группа эксперимента 2 — потомство крыс, содержавшихся в помещении, искусственно загрязнённом дымом и сажистыми газами, образующимися при сгорании автомобильных шин. Матери (беспородные белые самки массой 150–170 г) подвергались воздействию загрязняющих веществ по 6 часов в сутки в течение 2 месяцев, после чего были спарены; потомство в период лактации также содержалось вместе с матерями в соответствующих условиях. Матери были рандомизированы по трём воздушным условиям (по 12 в каждом). Каждое условие создавалось в отдельном помещении одного здания (по одному помещению на условие), поэтому влияние помещения неотделимо от влияния воздуха. Исследование проведено в соответствии с международными этическими нормами работы с лабораторными животными (принцип 3R). Санитарно-гигиеническое заключение об условиях эксперимента выдано заместителем директора Чирчикского филиала ТГМУ по учебной работе (СанПиН № 0053-23; [№ и дата заключения]); оно не является разрешением этического комитета. Решение этического комитета: [название, № и дата].

Потомство забирали в исследование на 7-е, 14-е, 21-е и 30-е сутки постнатального развития. Трахею, бронхи и ткань лёгкого фиксировали в 10 % нейтральном забуференном формалине, из парафиновых блоков готовили срезы толщиной 5–7 мкм и окрашивали гематоксилином и эозином. Срезы изучали под микроскопом Carl Zeiss Axio Lab.A1, измерения выполняли в программе ImageJ [8]. Измеряли толщину слизистой оболочки бронха (мкм), высоту эпителиальных клеток (мкм), площадь (мкм^2) и диаметр (мкм) лимфоидного фолликула, а также число фолликулов на единицу площади. Измерения проводили на серийных срезах (интервал между срезами 15 мкм) в бронхиолах сопоставимого калибра.

В каждой группе на каждый срок исследовали по 8 животных, от каждого животного получали по 3–4 измерения (всего 30 измерений на каждую ячейку). Восемь животных каждой ячейки происходили от разных матерей, однако часть матерей давала потомство для нескольких сроков, а принадлежность животного к матери не регистрировалась. Поскольку повторные измерения, полученные от одного животного, не являются независимыми, единицей анализа считали животное: измерения каждого животного усредняли, и для каждой группы и каждого срока получали 8 независимых значений (n = 8) [9]. Статистический анализ выполнен в среде Python 3 (NumPy, SciPy). Нормальность распределения проверяли критерием Шапиро–Уилка, однородность дисперсий — критерием Ливиня (Брауна–Форсайта). Внутри каждого срока три группы сравнивали критерием Краскела–Уоллиса, парные сравнения проводили U-критерием Манна–Уитни; для множественных сравнений применяли поправку Холма [10]. Вклад факторов воздушной среды и возраста оценивали двухфакторным дисперсионным анализом (частный η^2), устойчивость результатов проверяли анализом ранговых преобразованных данных. Уровень значимости $p < 0,05$. Данные представлены в виде M ± SD.

Результаты исследования.

Толщина слизистой оболочки. Во всех возрастных срезах различия между тремя группами были достоверными (Краскела–Уоллис, $p < 0,001$); во всех 12 парных сравнениях (3 пары × 4 срока) p с поправкой Холма составило 0,0005 (минимально возможное значение при n = 8), то есть значения групп не перекрывались (таблица 1, рисунок 1). В группе эксперимента 2 толщина превышала контрольные значения в 2,8–4,5 раза; наибольшее различие зарегистрировано на 21-е сутки (71,5 ± 6,3 мкм против 16,0 ± 1,4 мкм в контроле). В группе эксперимента 1 толщина также была на 43–71 % выше контрольной, то есть даже обычный городской воздух сам по себе приводил к достоверному утолщению. По данным двухфакторного анализа влияние воздушной среды было очень сильным (частный $\eta^2 = 0,98$), возраст ($\eta^2 = 0,74$) и их взаимодействие ($\eta^2 = 0,77$) также были значимы (во всех случаях $p < 0,001$).

Таблица 1.

Толщина слизистой оболочки бронхов, мкм (M ± SD, n = 8 животных). * — относительно контроля, # — относительно эксперимента 1 при p < 0,05 (U-критерий Манна–Уитни с поправкой Холма)

Возраст	Контроль	Эксперимент 1	Эксперимент 2	p (К–У)
7-е сут.	14,4 ± 0,4	23,1 ± 1,4*	46,3 ± 2,6*#	< 0,001
14-е сут.	15,7 ± 0,9	23,7 ± 1,6*	48,6 ± 3,1*#	< 0,001
21-е сут.	16,0 ± 1,4	27,3 ± 3,0*	71,5 ± 6,3*#	< 0,001
30-е сут.	18,3 ± 0,7	26,1 ± 1,0*	51,4 ± 2,0*#	< 0,001

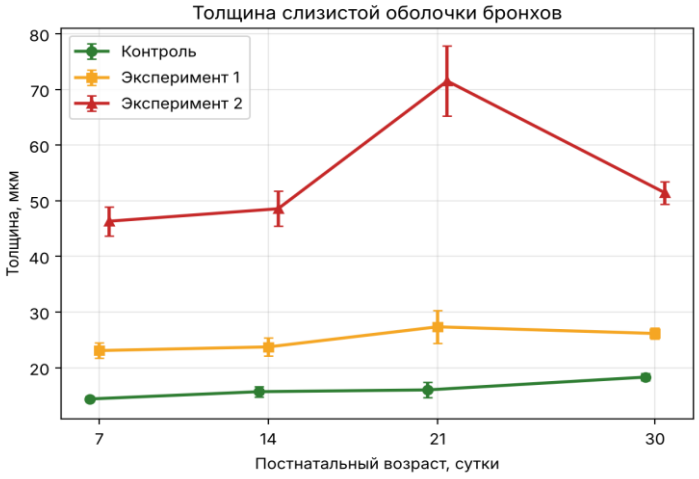


Рисунок 1. **Толщина слизистой оболочки бронхов по группам и срокам (среднее ± SD, n = 8 животных)**

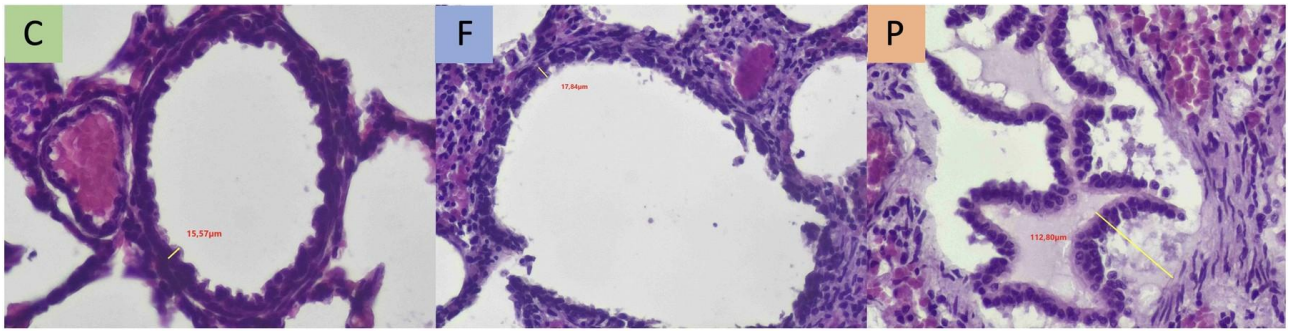


Рисунок 2. **Бронхи, 21-е сутки, окраска гематоксилином и эозином**

Слева направо: контроль, эксперимент 1, эксперимент 2. Цифры обозначают отдельные измерения в данном поле зрения; групповые средние приведены в таблице 1.

Высота эпителия. В группе эксперимента 2 высота эпителиальных клеток во всех возрастных срезах была выше, чем в контроле (на 11–24 %; в паре «контроль — эксперимент 2» p с поправкой Холма = 0,021 (7-е сутки), 0,021 (14-е сутки), 0,014 (21-е сутки) и < 0,001 (30-е сутки)). В группе эксперимента 1 показатель был на 6–11 % выше контрольного, однако после поправки Холма достоверным различие осталось только на 21-е сутки (p = 0,030). Влияние воздушной среды было умеренным (η^2 = 0,38), влияние возраста — более выраженным (η^2 = 0,50), а взаимодействие — незначимым (p = 0,711), то есть высота эпителия во всех группах нарастала в одном направлении, параллельно (таблица 2).

Таблица 2.

Высота эпителиальных клеток бронхов, мкм (M ± SD, n = 8 животных). Обозначения как в таблице 1.

Возраст	Контроль	Эксперимент 1	Эксперимент 2	p (К–У)
7-е сут.	12,1 ± 1,7	13,2 ± 1,7	14,9 ± 1,7*	0,008
14-е сут.	12,8 ± 1,7	14,1 ± 1,8	15,7 ± 1,7*	0,013
21-е сут.	13,6 ± 0,9	14,6 ± 0,9*	15,1 ± 1,1*	0,009
30-е сут.	15,7 ± 0,8	16,6 ± 1,0	18,5 ± 1,2*#	0,001

Лимфоидные фолликулы. Площадь, диаметр и число фолликулов определялись преимущественно возрастом (η^2 фактора возраста — 0,45, 0,50 и 0,61 соответственно), влияние воздушной среды было небольшим (η^2 = 0,09, 0,09 и 0,07). Достоверное межгрупповое различие выявлено только на 14-е сутки и только между контролем и экспериментом 2: медиана площади фолликула в эксперименте 2 составила 19 845 мкм^2, в контроле — 16 084 мкм^2 (p = 0,044), медиана диаметра — 174 и 140 мкм (p = 0,044). В остальные сроки, а также по числу фолликулов достоверных межгрупповых различий не найдено (таблица 3).

Таблица 3.

Результаты двухфакторного дисперсионного анализа (частный η^2; n = 8 животных в каждой группе на каждый срок)

Показатель	Воздушная среда: η^2 (p)	Возраст: η^2 (p)	Взаимодействие: η^2 (p)
Толщина слизистой оболочки	0,98 (< 0,001)	0,74 (< 0,001)	0,77 (< 0,001)
Высота эпителия	0,38 (< 0,001)	0,50 (< 0,001)	0,04 (0,711)
Площадь фолликула	0,09 (0,023)	0,45 (< 0,001)	0,12 (0,091)
Диаметр фолликула	0,09 (0,015)	0,50 (< 0,001)	0,18 (0,009)
Число фолликулов	0,07 (0,042)	0,61 (< 0,001)	0,06 (0,521)

Из 60 парных сравнений достоверными оказались 20: 12 — по толщине слизистой оболочки, 6 — по высоте эпителия, остальные 2 — по площади и диаметру фолликулов на 14-е сутки.

Обсуждение.

Полученные результаты показывают, что при хроническом воздействии на мать наиболее выраженное изменение стенки бронхов потомства проявляется в толщине слизистой оболочки, причём это изменение зависит от степени загрязнения: при обычном городском воздухе оно умеренное, при искусственно загрязнённом

воздухе — резко выраженное. На срезах утолщение наблюдалось главным образом вместе с отёком собственной пластинки слизистой оболочки и её отслоением от подлежащих слоёв (рисунок 2); это заключение основано на гистологической картине, и для выяснения механизма его возникновения необходимы отдельные исследования (например, проницаемости сосудов и маркеров воспаления). Изменение утолщения с возрастом (наибольшее различие на 21-е сутки) может быть связано с ростом бронхиального дерева в постнатальном периоде.

Влияние на высоту эпителия было менее выраженным и определялось преимущественно возрастом, что согласуется с данными о постнатальном росте дыхательных путей у крысы. Размеры лимфоидных фолликулов BALT характеризовались высокой вариабельностью на протяжении исследования, межгрупповое различие выявлено только на 14-е сутки; это может свидетельствовать о более раннем начале созревания BALT в условиях искусственного загрязнения, однако данная находка имеет пограничную значимость ($p = 0,044$) и требует перепроверки. Увеличение размеров и числа фолликулов с возрастом соответствует описанной в литературе постнатальной динамике формирования BALT у крысы.

Ограничения исследования. Каждое воздушное условие создавалось в одном помещении, поэтому помещение и воздействие неразделимы, а различия отражают разницу между помещениями, а не доказывают причинное действие состава воздуха. Концентрации загрязняющих веществ не документированы, анализ «доза — эффект» невозможен. Воздействие на потомство складывалось из предшествовавшего спариванию воздействия на матерей, пренатального, лактационного и постнатального компонентов, которые разделить нельзя. Исследование поперечное; запланированный срез на 4-е сутки не выполнен (выделить органы у 4-суточных животных не удалось). Срезы получены преимущественно на уровне бронхиол; бокаловидные клетки (преимущественно в крупных бронхах) не оценивались, а герминативные центры в 7–30 сут. не выявлены, что согласуется с литературными данными о более позднем созревании BALT у крысы. Первичный показатель и объём выборки заранее не определялись; ослепление оценки [уточняется]. Результаты следует трактовать как наблюдаемую связь, а не как причинно-следственную зависимость.

Заключение.

1. Хроническое воздействие загрязнённого воздуха на мать сопровождается достоверным увеличением толщины слизистой оболочки бронхов потомства: в искусственно загрязнённом воздухе — в 2,8–4,5 раза, в обычном городском воздухе — на 43–71 % (во всех сравнениях $p < 0,001$). Этот показатель является наиболее чувствительным морфометрическим критерием воздействия воздушной среды.

2. Высота эпителия в загрязнённом воздухе была на 11–24 % выше; при обычном городском воздухе эффект слабый (6–11 %) и лишь на 21-е сутки выявлено небольшое повышение.

3. Размеры и число лимфоидных фолликулов определяются преимущественно возрастом; влияние воздушной среды выявлено только на 14-е сутки и только между контролем и экспериментом 2.

ЛИТЕРАТУРА

1. World Bank. Air Quality Assessment for Tashkent and the Roadmap for Air Quality Management Improvement in Uzbekistan. Washington, DC: World Bank; 2024. doi:10.1596/41969.

2. Gheissari R, Liao J, Garcia E, Pavlovic N, Gilliland FD, Xiang AH, Chen Z. Health outcomes in children associated with prenatal and early-life exposures to air pollution: a narrative review. Toxics. 2022;10(8):458. doi:10.3390/toxics10080458.

3. Pabst R, Miller LA, Schelegle E, Hyde DM. Organized lymphatic tissue (BALT) in lungs of rhesus monkeys after air pollutant exposure. Anat Rec. 2020;303:2766–2773. doi:10.1002/ar.24456.

4. Gregson RL, Davey MJ, Prentice DE. Postnatal development of bronchus-associated lymphoid tissue (BALT) in the rat, Rattus norvegicus. Lab Anim. 1979;13:231–238.

5. Plesch BEC, Gamelkoorn GJ, van de Ende M. Development of bronchus associated lymphoid tissue (BALT) in the rat, with special reference to T- and B-cells. Dev Comp Immunol. 1983;7:179–188.

6. Lee D, Srirama PK, Wallis C, Wexler AS. Postnatal growth of tracheobronchial airways of Sprague–Dawley rats. J Anat. 2011;218:717–725. doi:10.1111/j.1469-7580.2011.01372.x.

7. Азизова Ф.Х., Тулабоев С.О., Салойдинов А.Ш., Эргашева Ф.Д. Иммуногистохимический метод оценки влияния хронического воздействия загрязняющих веществ воздуха на постнатальное развитие лимфоидных тканей стенки дыхательных путей потомства [Havoni ifloslantiruvchi moddalarning surunkali ta'siri natijasida naslning nafas yo'llari devoridagi limfoid to'qimalarning tug'ruqdan keyingi rivojlanishiga ta'sirini immunogistokimyoviy baholash usuli] (на узб. яз.). Tibbiyot ta'limi va innovatsiyalari. 2026;(9):169–173.

8. Schneider CA, Rasband WS, Eliceiri KW. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. Nat Methods. 2012;9:671–675.

9. Lazic SE, Clarke-Williams CJ, Munafò MR. What exactly is 'N' in cell culture and animal experiments? PLoS Biol. 2018;16(4):e2005282. doi:10.1371/journal.pbio.2005282.

10. Holm S. A simple sequentially rejective multiple test procedure. Scand J Stat. 1979;6(2):65–70.