

О.Л. Іванків
О.В. Дудок
М.С. Регеда

ДНТ «Львівський національ-
ний медичний університет
імені Данила Галицького»
Львів, Україна

Morphologia
2026;20(2):21-26

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2026.2.21-26>
Морфологія / Morphologia / Morfologiã
ISSN 1997-9665



УДК: 616-056.3:616.24]:612.015.33]-018-092.9

МОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ТА ОЦІНКА СТАНУ ОКРЕМИХ ПОКА- ЗНИКІВ СИСТЕМИ ОКСИДУ АЗОТУ ЛЕГЕНЬ МОРСЬКИХ СВИНОК ПІД ЧАС ПЕРЕБІГУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬ- НОГО АЛЕРГІЙНОГО АЛЬВЕОЛІТУ

Ivankiv O.L. , Dudok O.V. , Regeda M.S.  Morphological features and functional state of the pulmo-
nary nitric oxide system in guinea pigs with experimental allergic alveolitis.

Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine.

ABSTRACT. The use of Freund's complete adjuvant (FCA) is a versatile method for the experimental modelling of a wide range of immune-mediated and autoimmune disorders, including allergic alveolitis. Nitric oxide acts as a key regulator of metabolism and the immune response in such processes, exhibiting pronounced vasoactive, mediatory and cytotoxic activity. Due to the instability of the free radical NO, it is advisable to assess the functional state of this system by determining the levels of its stable metabolites (nitrites and nitrates) in biological substrates. **The aim** of the study is to determine the characteristics of the dynamics of morphological changes in the lungs and the levels of stable NO metabolites in an experi-
mental model of allergic alveolitis (EAA). **Methods.** An experimental model of EAA was established in 39 guinea pigs weighing 180–230 g, which were administered 0.2 ml of Freund's adjuvant intramuscularly into the hind leg. The experi-
mental protocol involved six intravenous injections of 0.2 ml of an inactivated BCG vaccine suspension at 10-day intervals, starting from the 14th day after the initiation of immunisation. **Results and conclusion.** The results of morphological studies revealed a series of progressive changes in the microstructure of the lungs in EAA, which initially manifested as marked hyperaemia of the vascular bed and were subsequently accompanied by damage to the respiratory compartment in the form of thickening of the interalveolar septa, oedema of respiratory epithelial cells and macrophage infiltration. In later stages of the study, the formation of epithelioid granulomas was observed. Individual groups of alveoli in the pulmonary acini were in a state of atelectasis, indicating a local absence of the surfactant complex due to dysfunction of secretory alveolar cells. Biochemical analysis of lung tissue revealed elevated levels of nitric oxide (NO) derivatives, confirming its role as a patho-
genetic link in the development and progression of immunopathological changes of the delayed-type hypersensitivity type, characteristic of experimental allergic alveolitis.

Key words: experimental allergic alveolitis, nitric oxide, stable metabolites of nitric oxide.

 Ivankiv O.L. 0000-0002-4719-3263;  Dudok O.V. 0000-0001-9513-3460;

 Regeda M.S. 0000-0002-1238-393X

For correspondence: ✉ OksanaLvivna@gmail.com



© The Author(s) 2026. This is an open access article under the Creative Commons CC BY 4.0 license, which allows other people to freely distribute the published work with a mandatory reference to the authors of the original work and the first publication of the work in this journal.



Citation: Ivankiv OL, Dudok OV, Regeda MS. [Morphological features and functional state of the pulmonary nitric oxide system in guinea pigs with experimental allergic alveolitis]. Morphologia. 2026;20(2):21-6. Ukrainian
doi: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2026.2.21-26>

Отримано / Received: 07.02.2026

Рецензовано / Revised: 12.04.2026

Прийнято / Accepted: 07.05.2026

Опубліковано / Published: 29.05.2026

Вступ

Експериментальні дослідження є невід'ємною частиною сучасної медицини, що забезпечує можливість комплексного та стадійного аналізу

патогенетичних механізмів під впливом різноманітних екзогенних та ендогенних чинників, зовнішніх та внутрішніх факторів, виявляти причинно-наслідкові зв'язки для подальшого пошуку мето-

дів ранньої діагностики патологічних змін, розробки профілактичних і лікувальних заходів [1].

Застосування повного ад'юванта Фрейнда (ПАФ) дозволяє відтворити в експерименті цілу низку імуноопосередкованих захворювань: алергійний альвеоліт, ревматоїдний артрит, аутоімунний міокардит, аутоімунний гепатит, аутоімунний тиреоїдит, алергійний енцефаломієліт, силікатоз та ін. □2,3,4,5□.

Відомо, що роль оксиду азоту (NO) полягає у регуляції клітинного метаболізму. Він бере участь у роботі багатьох органів і систем організму, зокрема, контролі мозкового кровообігу, тромбоутворенні, є посередником у фізіологічних процесах, де запалення відіграє основну роль [6]. Також доведена його цитотоксична та цитостатична активність як одного із регуляторів імунної системи [7]. Стабільні метаболіти оксиду азоту – це NO₂ та NO₃. Зважаючи на те, що NO є короткотривалим та нестабільним радикалом, то його активність доцільно визначати якраз таки за рівнем цих стабільних метаболітів – нітратів та нітритів у біологічних рідинах та гомогенатах тканин.

Мета дослідження: з'ясувати особливості морфологічних змін легень та рівень стабільних метаболітів NO у визначені терміни моделювання експериментального алергійного альвеоліту (ЕАА).

Матеріали та методи

Експериментальну модель ЕАА відтворювали на морських свинках, оскільки ці тварини служать класичним об'єктом для відтворення захворювань алергійного і запального характеру [8].

Морські свинки утримувалися в стандартних умовах віварію ЛНМУ імені Данила Галицького, що відповідає нормам поводження з тваринами під час виконання експериментальних досліджень згідно положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах", ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001), Закону України № 3447-IV "Про захист тварин від жорстокого поводження" згідно з директивою Ради ЄС 2010/63/EU про дотримання постанов, законів, адміністративних положень Держав ЄС з питань захисту тварин, які використовуються з науковою метою [9, 10], протоколом №4 засідання комісії з питань етики наукових досліджень, експериментальних розробок і наукових творів ЛНМУ імені Данила Галицького від 17.03.2025р.

Відтворення ЕАА проводили на 39 морських свинках. масою тіла 180 — 230г. Відтворюючи модель ЕАА, морським свинкам вводили внутрішньом'язово 0,2 мл ад'юванта Фрейнда [8] у задню лапку тварини. Через 14 днів після імунізації внутрішньовенно за допомогою шприца вводили

0,2 мл суспензії вбитої вакцини БЦЖ 6 разів з інтервалом 10 діб.

Повний ад'ювант Фрейнда (ПАФ) готували за стандартною методикою [2, 11-13]. Під час приготування у лабораторних умовах використовували ослаблений вакцинальний штам *Micobacterium bovis* — *Bacille Calmette Guerin* (BCG).

Застосовували гомогенат БЦЖ в емульсії вазелінового масла для першого введення з метою нагромадження антигену в легенях. Надалі як антиген застосовували 1% суспензію вбитої БЦЖ у фізіологічному сольовому розчині на чотирнадцяту, двадцять четверту, тридцять четверту, сорок четверту, п'ятдесят четверту, шістдесят четверту доби експерименту.

На 21-шу та 44-ту доби експерименту під впливом хлороформного наркозу проводили декапітацію морських свинків та забирали легені для проведення морфологічного дослідження.

Морфологічне дослідження здійснювали традиційним способом. Після евтаназії біоптат легень фіксували у 4% розчині нейтрального формаліну, зневоднювали у спиртах, ущільнювали у парафіні та заливали у блоки. Парафінові зрізи товщиною 5-7мкм отримували з використанням мікротома MC-2, забарвлювали гематоксиліном та еозином. Світлову мікроскопію проводили на мікротомі Leica DM2500.

Для визначення рівня стабільних метаболітів NO у легенях морських свинків, дослідних тварин було поділено на 4 серії. 1 серія – інтактні тварини (контроль) – 10 мурчаків. 2 серія – тваринки (10) з ЕАА на 7 добу експерименту, 3 серія (10) – на 14 ту, 4-та (9) - на 21 доби експерименту відповідно. Виведення з експерименту проводили шляхом декапітації під хлороформним наркозом у терміни, що відповідають часу розвитку стадій запального процесу. □ Стабільні метаболіти NO визначали за стандартною методикою з використанням реактиву Грісса методом Н.Н.В. Schmidt [14]. Статистичну обробку результатів проводили за критерієм Стюдента, з використанням програмного забезпечення Microsoft Excel 8.0. Статистично достовірними розбіжності вважали при $p < 0,05$. Для проведення статистичних розрахунків, побудови графіків і таблиць використовували програмне забезпечення RStudio v1.2.5042, а також електронні таблиці Excel з пакету MS Office 2010 з використанням ліцензійної програми STATISTICA (версія 6.1; серійний номер AGAR 909 E415822FA). Послідовність статистичних процедур виконували згідно з рекомендаціями [15].

Результати та їх обговорення

При проведенні системного морфологічного аналізу гістологічних зрізів легеневої тканини, забарвлених за стандартною методикою гематоксиліном та еозином, на мікроскопічному рівні було верифіковано виражену структурну трансформа-

цію як судинно-стромальних елементів, так і респіраторного відділу паренхіми органа. Характерною особливістю виявлених змін була їхня гетерогенність: морфологічні ознаки ушкодження мали переважно вогнищевий (фокальний) характер, виникаючи у вигляді мозаїчних ділянок на тлі відносно збереженої гістоархітекτονіки бронхоальвеолярного комплексу, що свідчить про стадійність розвитку патологічного процесу. Станом на 21-у добу експериментального спостереження гістологічна картина легень піддослідних тварин демонструвала чіткі ознаки маніфестації алергійного альвеоліту. Патологічні перетворення першочергово охоплювали ангіоархітекτονіку мікроциркуляторного русла: реєструвалося різке переповнення кров'ю судин різного калібру, які у переважній більшості випадків мали типову перибронхіальну локалізацію (рис. 1).

У термінальних судинах та капілярах альвеолярних перегородок спостерігалися глибокі реологічні порушення у вигляді тривалого стазу та вираженого складж-феномену еритроцитарної маси. Паралельно з гемодинамічними розладами відмічалася реактивна відповідь судинного бар'єра, що проявлялася інтенсивним набряканням та десквамацією ендотеліоцитів, вказуючи на розвиток ендотеліальної дисфункції та підвищення судинної проникності у відповідь на алергійне запалення (рис. 2).

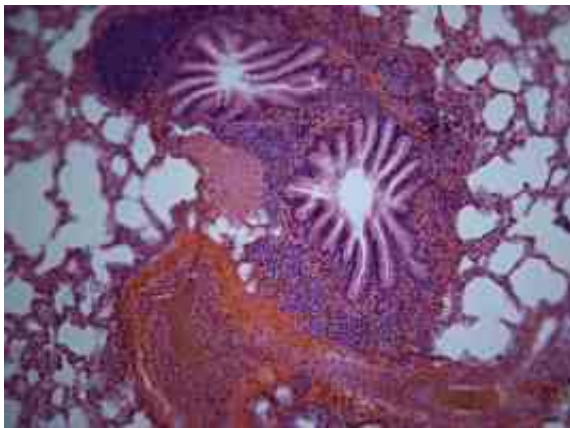


Рис. 1. Різке повнокрів'я судин, що оточують малі бронхи. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 100$.

У зазначений термін експериментального спостереження було верифіковано ініціальні патоморфологічні перетворення, що свідчать про формування ознак альвеоліту, патогенетично детермінованого механізмами імунopatологічної реакції гіперчутливості сповільненого типу (ГСТ).

Специфічні зміни респіраторного епітелію альвеолярної вистилки характеризувалися явищами вираженої внутрішньоклітинної гідратації, що морфологічно проявлялося у вигляді інтенсивного набряку перинуклеарних ділянок цитоплазми пневмоцитів. Паралельно з дистрофічними змінами епітеліоцитів спостерігалася активна реакція мононуклеарної фагоцитарної системи: було зафіксовано статистично значуще зростання чисельності альвеолярних макрофагів у просвітах респіраторних відділів, що є маркером інтенсифікації локальної імунної відповіді (рис. 3).

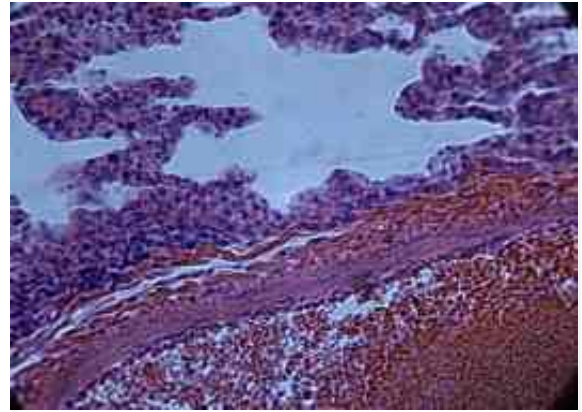


Рис. 2. Стаз у просвіті вени, гіперхромність ендотеліальної вистилки, діападез еритроцитів, лімфо-моноцитарна інфільтрація зовнішньої оболонки вени. Забарвлення толуїдиновим синім. $\times 200$.

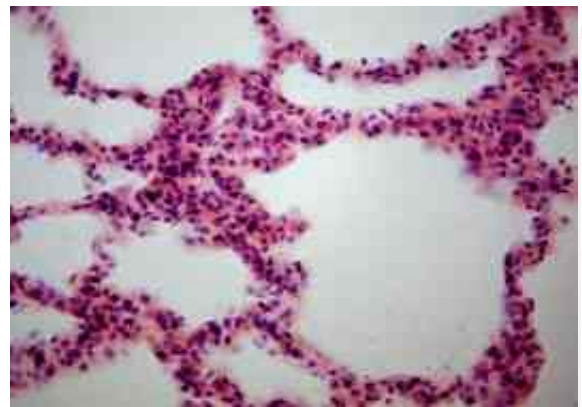


Рис. 3. Потовщення міжальвеолярних перегородок, зменшення просвіту окремих альвеол. Набряк респіраторних альвеолоцитів, зростання вмісту альвеолярних макрофагів. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 200$.

У подальшому, а саме на 44-у добу спостереження, характер виявлених мікроструктурних змін зазнавав суттєвої якісної трансформації. У цей період відмічався поступовий регрес маніфестації первинних дисциркуляторних розладів, тоді як деструктивно-проліферативні процеси безпосередньо у респіраторному відділі паренхіми набували прогресуючого перебігу.

Основні морфологічні ознаки стосувалися масивної клітинної інфільтрації альвеолярних перегородок та вистилки альвеол. Процес супроводжувався активною проліферацією альвеолоцитів

першого та другого порядків, а також прогресуючою кумуляцією макрофагальних елементів у поєднанні з інтенсивною лімфоцитарною інфільтрацією інтерстицію. Подібне наростання клітинної насиченості респіраторного відділу свідчить про хронізацію імунізапального процесу та глибоке структурне ремоделювання легеневої тканини у відповідь на тривалу дію антигенного чинника. Значна частина респіраторних відділів легень перебувала у стані стійкого ателектазу що, вочевидь, було наслідком вираженої дисфункції сурфактантної системи та дефіциту її компонентів, що призводить до втрати стабільності альвеол на видиху. При мікроскопічному дослідженні було верифіковано дифузне потовщення міжальвеолярних перегородок, що відбувалося переважно за рахунок їх масивної інфільтрації мононуклеарними клітинними елементами, серед яких домінували клітини лімфоцитарного ряду (рис. 4).

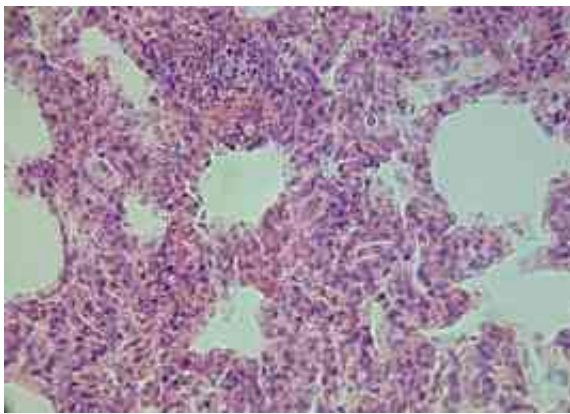


Рис. 4. Різке потовщення міжальвеолярних септ з лімфоцитарно-плазмоцитарною інфільтрацією, формування епітеліоїдних гранульом. Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 120$.

У межах цих вогнищ клітинної акумуляції було ідентифіковано ініціальні стадії формування епітеліоїдно-клітинних гранульом. Наявність таких структур є прямим морфологічним доказом активації специфічних продуктивних процесів, індукованих реакцією гіперчутливості сповільненого типу у відповідь на тривалу антигенну стимуляцію компонентами вбитої вакцини БЦЖ, що входить до складу повного ад'юванта Фрейнда. Логічним продовженням роботи стало проведення біохімічного аналізу для кількісного визначення функціонального стану нітридергічної системи в тканинах респіраторного відділу.

Наступним етапом дослідження була оцінка рівня концентрації стабільних метаболітів оксиду азоту (нітритів та нітратів) у гомогенатах легеневої тканини морських свинок. Аналіз отриманих результатів продемонстрував, що в динаміці формування експериментального алергічного альвеоліту (на 7-му, 14-ту та 21-шу добу) відбувалося

прогресуюче та статистично достовірне зростання показників системи NO.

Маніфестація гіперпродукції оксиду азоту фіксувалася вже на ранньому етапі експерименту (7-ма доба), коли рівень його стабільних метаболітів перевищував показники контрольної групи на 30,0% ($p < 0,05$). На подальших термінах спостереження спостерігалася стійка тенденція до посилення інтенсивності цього процесу: на 14-ту добу рівень метаболітів NO у легенях зріс на 46,0%, а на 21-шу добу досяг максимального значення, що на 70,0% ($p < 0,05$) перевищувало параметри інтактних тварин. Така динаміка свідчить про інтенсивну активацію нітрооксидсинтазного шляху на тлі розвитку імунізапального процесу в паренхімі легень.

Висновки

1. Експериментальний алергічний альвеоліт супроводжується низкою морфологічних змін, які стосуються судинно-стромальних зрушень у більш ранні терміни з подальшим ураженням структури респіраторного відділу у вигляді гіперплазії респіраторного епітелію, потовщення аерогематичного бар'єру з інфільтрацією міжальвеолярних перегородок мононуклеарами.

2. Суттєве підвищення вмісту дериватів монооксиду азоту у легеневій тканині при ЕАА свідчить, у першу чергу, про його роль у посиленні процесів вазодилатації з наступною еміграцією у стромальний компонент прозапальних клітинних елементів та посиленням, у результаті цього, процесів деструкції.

Перспективи подальших досліджень полягають у детальному вивченні молекулярних механізмів розвитку експериментального алергічного альвеоліту, зокрема шляхом дослідження ролі різних ізоформ NO-синтаз (iNOS, eNOS) у динаміці патологічного процесу для уточнення джерел надлишкової генерації монооксиду азоту. Подальший науковий пошук доцільно спрямувати на оцінку ефективності специфічних інгібіторів NO-синтаз та антиоксидантів як засобів корекції оксидативного стресу та запобігання деструкції аерогематичного бар'єру на ранніх етапах захворювання.

Важливим аспектом залишається проведення імуногістохімічного аналізу для деталізації складу мононуклеарних інфільтратів та ідентифікації конкретних субпопуляцій клітин, що провокують гіперплазію респіраторного епітелію. Особливої уваги потребує вивчення маркерів трансформації гострого запалення у хронічний фіброз за умов тривалого впливу алергену. Крім того, практичний інтерес становить встановлення кореляційних зв'язків між рівнем дериватів NO у сироватці крові та ступенем морфологічних змін у легенях, що дозволить обґрунтувати нові критерії ранньої діагностики та розробити методи цілеспрямованого фармакологічного блокування патогенетичних шляхів деструкції легеневої тканини.

Інформація про конфлікт інтересів

Потенційних або явних конфліктів інтересів, що пов'язані з цим рукописом, на момент публікації не існує та не передбачається.

Інформація про фінансування

Це дослідження не отримувало спеціального гранту від жодної фінансової установи у державному, комерційному чи некомерційному секторах.

**Літературні джерела
References**

1. Paltov YeV, Dragun AI, Chelpanova IV. [Comparative macro- and micromorphology of the human and rodent mandible]. *Morphologia*. 2025;19(1):45-52. Ukrainian. doi: 10.26641/1997-9665.2025.1.45-52
2. Gladkikh FV. [Freund's adjuvant — a classic among vaccine adjuvants and the cornerstone of experimental immunology]. *Bulletin of V.N. Karazin Kharkiv National University. Medicine Series*. 2024;32(3(50)):414-39. Ukrainian. doi: 10.26565/2313-6693-2024-50-10
3. Zhang J, LiP, Guo HF, Liu L, Liu XD. Pharmacocnetic- pharmacodynamic modeling of diclofenac in normal and Freund's complete adjuvant-induced arthritic rats. *Acta pharmacologica Sinica*. 2012;33(11):1372-1378. doi: 10.1038/aps.2012.67
4. Hladkykh FV. [Evaluation of tentative and research activity in rats with experimental allergic encephalomyelitis against the administration of cell-free cryopreserved biological agents]. *Psychiatry, Neurology and Medical Psychology*. 2024;11(2(24)):124–37. Ukrainian. doi: 10.26565/2312-5675-2024-24-02
5. Lasrado N, Gangapara A, Arumugam R, Massilamany C, Pokal S, Zhou Y. Identification of Immunogenic Epitopes That Permit the Detection of Antigen-Specific T Cell Responses in Multiple Serotypes of Group B Coxsackievirus Infections. *Viruses*. 2020;12(3):347. doi: 10.3390/v12030347
6. Sochor NR, Shkrobot SI, Yasniy OR. [Content of the stablemetabolites of nitric oxide and endothelin-1 in different subtypes of ischemic stroke]. *Bulletin of Scientific Research*. 2016;1:84-7. Ukrainian. doi: 10.11603/2415-8798.2016.1.6136
7. Li Y, Jacox LA, Little SH. Orthodontic tooth movement: The biology and clinical implications.. *Kaohsiung J Med Sci*. 2018;34:207–14. doi: 10.1016/j.kjms.2018.01.007
8. Regeda MS. [Experimental models of allergic alveolitis and pneumonia], *Methodological guidelines*. Lviv; 2024. 13 p. Ukrainian.
9. European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasburg: Council of Europe. 1986;123:52. Available from: <https://rm.coe.int/168007a67b>.
10. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the Protection of Animals Used for Scientific Purposes. *Off J Eur Union*. 2010;53(L276):33–79.
11. Apostólico JS, Lunardelli VA, Coirada FC, Boscardin SB, Rosa DS. Adjuvants: Classification, Modus Operandi, and Licensing. *Journal of immunology research*. 2016;2016:1459394. doi: 10.1155/2016/1459394
12. Hong YH, Song C, Shin KK, Choi E, Hwang SH, Jang YJ, Taamalli A, Yum J, Kim JH, Kim E, Cho JY. Tunisian Olea europaea L. leaf extract suppresses Freund's complete adjuvant-induced rheumatoid arthritis and lipopolysaccharide-induced inflammatory responses. *J Ethnopharmacol*. 2021;268:113602. doi: 10.1016/j.jep.2020.113602
13. Topping LM, Romero-Castillo L, Urbonaviciute V, et al. Standardization of Antigen-Emulsion Preparations for the Induction of Autoimmune Disease Models. *Front Immunol*. 2022;13:892251. doi: 10.3389/fimmu.2022.892251
14. Schmidt HHW. Determination of Nitrite and Nitrate Culture Media. *Acta Biochemica*. 1995;2:323-7.
15. Hruziova TS, Lekhan VM, Ohniev VA, Halienko LI, Kriachkova LV, Palamar BI, et al. [Biostatistics]. Vinnytsia: New Book; 2020. 384 p. Ukrainian.

Іванків О.Л., Дудок О.В., Регеда М.С. Морфологічна характеристика та оцінка стану окремих показників системи NO легень морських свинок під час перебігу експериментального алергійного альвеоліту.

ДНТ «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького», Львів, Україна.

РЕФЕРАТ. Застосування повного ад'юванта Фрейнда є універсальним методом експериментального моделювання широкого спектру імуноопосередкованих та аутоімунних патологій, в тому числі й алергійного альвеоліту. Ключовим регулятором метаболізму та імунної відповіді в таких процесах виступає оксид азоту (NO), який проявляє виражену вазоактивну, медіаторну та цитотоксичну активність. Через нестабільність вільного радикалу NO, оцінку функціонального стану цієї системи доцільно проводити шляхом

визначення рівнів його стабільних метаболітів (нітритів та нітратів) у біологічних субстратах. **Мета** дослідження – встановити особливості динаміки морфологічних змін легень та показники рівня стабільних метаболітів NO на експериментальній моделі алергійного альвеоліту (ЕАА). **Методи.** Експериментальну модель ЕАА відтворювали на 39 морських свинках. масою тіла 180 — 230г, яким вводили внутрішньом'язово у задню лапку 0,2 мл ад'юванта Фрейнда. Схема експерименту передбачала шестикратне внутрішньовенне введення 0,2 мл суспензії інактивованої вакцини БЦЖ з 10-денним інтервалом, розпочинаючи з 14-го дня після ініціації імунізації. **Результати та підсумок.** Результати морфологічних досліджень засвідчили низку прогресуючих змін у мікроструктурі легень при ЕАА, які на початках проявлялися у вираженій гіперемії судинного русла і згодом супроводжувалися ураженням респіраторного відділу у вигляді потовщення міжальвеолярних перегородок, набряку респіраторних епітеліоцитів та макрофагальної інфільтрації. У більш пізні терміни дослідження виявлено формування епітеліоїдних гранульом. Окремі групи альвеол легеневого ацинусу перебували у стані ателектазу, що вказує на локальну відсутність сурфактантного комплексу внаслідок дисфункції секреторних альвеолоцитів. При біохімічному дослідженні у легеневій тканині виявлено підвищений вміст похідних монооксиду азоту, що підтверджує роль його, як патогенетичної ланки у розвитку та прогресуванні імунопатологічних змін за типом гіперчутливості сповільненої дії, притаманних експериментальному алергійному альвеоліту.

Ключові слова: експериментальний алергійний альвеоліт, альвеолярні макрофаги, легені, оксид азоту, стабільні метаболіти оксиду азоту.