

ВИВЧЕННЯ РЕСПІРАТОРНОЇ ФУНКЦІЇ ЛЕГЕНЬ МЕТОДОМ ПРИМУСОВИХ КОЛИВАНЬ

Р. О. Моргачев^{1, а}, В. С. Нагібін^{2, б}, Т. І. Древицька^{2, в}, В. Є. Досенко^{2, г}

¹ Національний технічний університет України
«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»,
Фізико-технічний інститут

² Інститут фізіології імені О. О. Богомольця НАН України

Анотація

В сучасній практиці доцільно використовувати та створювати моделі людських захворювань на тваринах, для подальшого пошуку ліків та детального вивчення. Для повного контролю над легеневиими функціями миші використовують інвазійний метод примусових коливань. Ідея методу полягає в повному контролі параметрів тиску, об'єму та частоти зміни їх у часі. В цій роботі першою складовою є достовірне підтвердження наявності бронхіальної астми за рахунок змін фізичних параметрів (тиску, об'єму), використовуючи систему, де програмно задаються вихідні сигнали. Із отриманих даних обраховуються такі параметри: опір дихальних шляхів та розтяжність легень. Таким чином, в даній роботі отримано підтвердження ефективності використання даного методу моделювання астми на мишах. За допомогою системи штучної вентиляції та легеневої механіки SciReq FlexiVent показано, що у тварин із астмою достовірно збільшується опір верхніх дихальних шляхів та достовірно зменшується розтяжність.

Ключові слова: механіка дихальної системи, бронхіальна астма, система FlexiVent, метахоліновий тест, розтяжність, опір дихальних шляхів, forced oscillation technique (FOT)

Вступ

Одним із найпоширеніших захворювань по даним ВООЗ є бронхіальна астма. Особливо актуальним є дослідження таких коморбідних патологій як бронхіальна астма та артеріальна гіпертензія. Це пов'язане з тим, що більшість препаратів для коригування артеріальної гіпертензії (β -адреноблокатори, інгібітори ангіотензин-перетворюючого ферменту) чинять вплив на дихальну систему, а саме підвищують збудливість та скоротливу активність гладком'язових клітин бронхів, і, відповідно, опір верхніх дихальних шляхів, а у хворих на астму і без того спостерігаються бронхоконстрикція та бронхоспазми. Розробка нових методів та підходів у лікуванні таких хворих є надзвичайно важливою та перспективною практичною задачею.

1. Базові положення дослідження

Астма – хронічне запальне захворювання дихальних шляхів, яке визначають за різноманітними симптомами, такими як оборотна обструкція дихальних шляхів та бронхоспазм. Підвищення опору руху повітря крізь верхні дихальні шляхи і порушення розслаблення гладком'язових клітин є основним компонентом таких запальних процесів як астма. Підвищення внутрішньоклітинної концентрації кальцію (Ca^{2+}) у реакціях гладеньких м'язів дихальних шля-

хів (ASM) у відповідь на бронхоконстрикторні фактори, є одним з ключових компонентів у регуляції опору верхніх дихальних шляхів. Миші – це один із видів експериментальних тварин, які використовуються для відтворення саме імунологічних та запальних захворювань [1, 2]. Метою даної роботи є дослідження функціональних параметрів зовнішнього дихання за умов експериментального моделювання астми у мишей, та підтвердження наявності відповідних змін, які супроводжують даний патофізіологічний процес. Застосування ефективного методу для експериментального відтворення астми у тварин, при котрому є можливість отримати достатню кількість статистичних даних про зміну фізичних параметрів дихальної системи, що зробить можливим подальше дослідження нових методів фармакологічної та генетичної корекції ряду коморбідних патологій.

2. Методи дослідження

2.1. Підготовка тварин

Дослідження були проведені на мишах лінії *Balb/c*. В кожній групі було по 8 тварин. Тварин сенсibiliзували 20 мкг овальбуміну (OVA), адсорбованого на 1,0 алюмінію внутрішньовенно на 1, 7 та 14 дні. Після сенсibiliзації була фаза провокації – протягом тижня тваринам інтраназально давали 50 мкг OVA в 50 мкл фізіологічного розчину під легким наркозом (ізофлуран). Контрольні миші отримували тільки фізіологічний розчин інтраназально. Всі тварини були проаналізовані 24 год після останнього інтраназального введення [3].

^аtrudomanich@gmail.com

^бnvasya@ukr.net

^вdrevitskaya@biph.kiev.ua

^гdosenko@biph.kiev.ua

2.2. Визначення параметрів системи дихання. Метод примусових коливань

Для визначення параметрів системи дихання використовувалася метод плетизмографії та його модифікації [4]. Після наркотизації тварини та проведення трахіостомії (19Fr канюлю) реєстрували параметри тиску, об'єму та часу на вдосі. Розраховували наступні показники: опір дихальних шляхів (R_a – *airway resistance*) та розтяжність (C – *compliance*) у відповідь на збільшення концентрацій метахоліну (від 0 до 400 мг/мл в фізіологічному розчині), який вводили за допомогою небулайзера. Метахолін – це М-холіноміметик, за допомогою якого виявляють підвищену чутливість бронхів [5]. Параметри функції дихальних шляхів визначали за допомогою системи штучної вентиляції та легеневої механіки *SciReqFlexiVent* (Монреаль, Квебек, Канада), дана система використовує техніку нав'язаного форсованого дихання (*FOT*), з котрих маємо дані про зміну таких розрахованих параметрів функції дихання як розтяжність, гістерезис та опір повітряних шляхів. Система являє собою підконтрольну поршневу систему, яка задає умови дихального акту. Використовуючи принципи взаємозв'язку системи подачі повітря та відповіді легень, маємо результати про тиск, швидкість та інтенсивність руху повітря в системі примусових коливань.

2.3. Статистичний аналіз результатів

Порівняння проводилось з використанням двохфакторного дисперсійного аналізу (*two-way ANOVA test*) з поправкою Бонфероні для повторювальних порівнянь. Статистична значимість була створена при $P < 0.05$. Для всіх величин підраховано стандартну похибку середнього (*SE*).

3. Результати

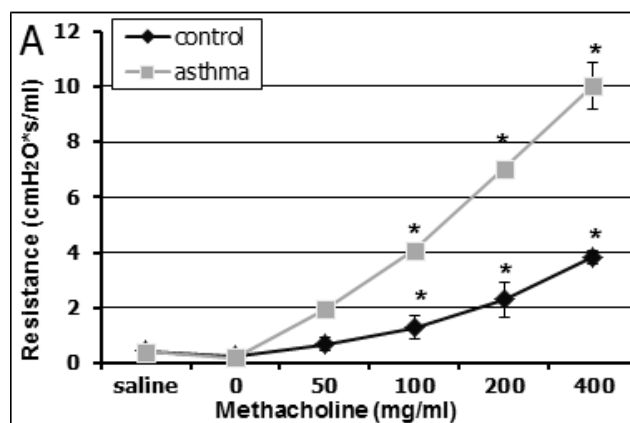
Отримані дані про зміни тиску, об'єму та часу, які були зареєстровані системою штучної вентиляції та легеневої механіки *SciReqFlexiVent* розраховували ряд показників системи зовнішнього дихання. Одним з важливіших показників є опір дихальних шляхів, котрий розраховується за наступною формулою:

$$R = \frac{\Delta P}{\dot{V}}$$

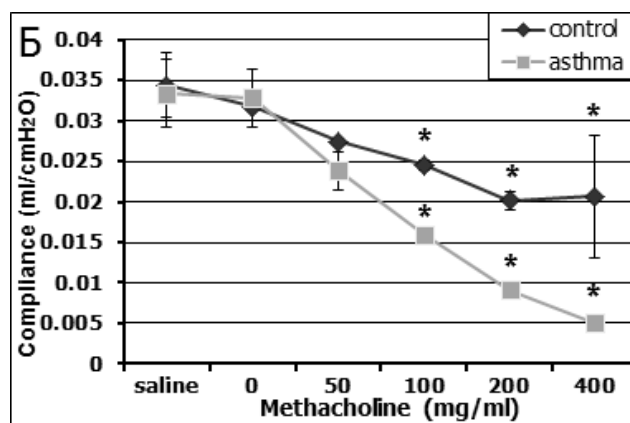
$$\Delta P = P_{ATM} - P_A$$

$$R = \frac{P_{ATM} - P_A}{\dot{V}}$$

де, R – опір дихальних шляхів; ΔP – різниця тиску повітряного потоку; P_{ATM} – атмосферний тиск; P_A – альвеолярний тиск; $\dot{V}$ – об'ємний повітряний потік. P_A та $\dot{V}$ постійно змінюються протягом респіраторного циклу.



(А) Зміни опору дихальних шляхів (R_a – *airway resistance*)



(Б) Розтяжність (C – *compliance*) у контрольних тварин та при моделюванні астми за допомогою введення овальбуміну (OVA).

Рис. 1. Дані представлені як середні $\pm$ середньоквадратичне відхилення ($n=8$ у кожній групі). * – достовірні зміни між контрольною та експериментальною групою ($P < 0.05$).

Врахуємо фактори для розрахунків опору верхніх дихальних шляхів: діаметр провідних шляхів та розподіл потоку на ламінарний та турбулентний.

У гідродинаміці рівняння Пуазейля є фізичним законом, який дає падіння тиску в рідині, що протікає через довгу циліндричну трубу. Допущення рівняння в тому, що потік є ламінарним, а рідина є ідеально в'язкою та нестисливою, і довжина потоку суттєво більша за його поперечний розмір. Рівняння також відоме як закон Хаген-Пуазейля, закон Пуазейля та рівняння Пуазейля.

$$\Delta P = \frac{8\mu l \dot{V}}{\pi r^4}$$

Другий показник це розтяжність (C – *compliance*). Він характеризується двома параметрами: ΔV є зміна об'єму, а ΔP – зміна плеврального тиску:

$$C = \frac{\Delta V}{\Delta P}$$

Таким чином, на рисунку (Рис. 1А) зображені зміни опору дихальних шляхів у контрольних тварин та при моделюванні астми при дії різних доз метахоліну. У мишей із бронхіальною астмою крива

опору знаходилась значно вище, порівняно із контрольними, в усіх точках, при чому відмінності між точками росли разом із концентрацією метахоліну. На рисунку (рис. 1Б) зображено зміни розтяжності верхніх дихальних шляхів у контрольних тварин та при моделюванні астми при дії різних доз метахоліну. У мишей із бронхіальною астмою розтяжність верхніх дихальних шляхів достовірно зменшувалась і крива знаходилась достовірно нижче кривої розтяжності у контролі. Достовірні відмінності ($P < 0.05$) спостерігались починаючи із концентрації 100 мг/мл метахоліну.

Висновки

Таким чином, в даній роботі отримано підтвердження ефективності використання даного методу моделювання астми на мишах. За допомогою системи штучної вентиляції та легеневої механіки *SciReqFlexiVent* показано, що у тварин із астмою збільшується опір верхніх дихальних шляхів та зменшується розтяжність.

Перелік використаних джерел

1. Bates Jason HT, Rincon Mercedes, Irvin Charles G. Animal models of asthma // American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology. — 2009. — Vol. 297, no. 3. — P. 401–410.
2. Reddy Aravind T, Lakshmi Sowmya P, Reddy Raju C. Murine model of allergen induced asthma // JoVE (Journal of Visualized Experiments). — 2012. — Vol. 63, no. 63. — P. 37–71.
3. Kumar Rakesh K, Herbert Cristan, Foster Paul S. Mouse models of acute exacerbations of allergic asthma // Respirology. — 2016. — Vol. 21. — P. 842–849.
4. Noninvasive and invasive pulmonary function in mouse models of obstructive and restrictive respiratory diseases / Jeroen AJ Vanoirbeek, Manuela Rinaldi, Vanessa De Vooght et al. // American journal of respiratory cell and molecular biology. — 2010. — Vol. 42, no. 1. — P. 96–104.
5. Caveolin-1 knockout mice exhibit airway hyperre-activity / Bharathi Aravamudan, Sarah K VanOosten, Lucas W Meuchel et al. // American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology. — 2012. — Vol. 303, no. 8. — P. 669–681.
1. Bates Jason HT, Rincon Mercedes, Irvin Charles G. Animal models of asthma // American Journal