УДК 616.24-002-092.9:577.112.3:615.33

Вплив інгаляційного введення плазміногену при гострому легеневому запаленні у щурів: пригнічення гіпоксично-ангіогенного каскаду і фіброгенезу

Д.С. Зябліцев[1], А.О. Тихомиров[2], В.В. Михайловська[1]

[1]Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ;
[2]Інститут біохімії імені О.В. Палладіна НАН України, Київ; e-mail: denis898@ukr.net

Гострі легеневе запалення та респіраторний дистрес-синдром (ГРДС) супроводжуються тяжкою гіпоксемією, коагулопатією та високим ризиком формування постзапального фіброзу легень. Центральну роль у клітинній відповіді на гіпоксію відіграє фактор 1α, індукований гіпоксією (HIF-1α), який активує транскрипцію фактора росту ендотелію судин (VEGF), що сприяє патологічному ангіогенезу, судинній проникності та фіброгенезу. Інгаляційне введення плазміногену можна розглядати як перспективний підхід до локального фібринолізу при ГРДС. Метою нашого дослідження було оцінити вплив інгаляційного введення плазміногену на легеневий вміст HIF-1α та VEGF у щурів на моделі гострого легеневого запалення. Дослідження виконано на 25 щурах-самцях лінії Вістар, яким системно та ендотрахеального вводили ліпополісахарид у поєднанні з механічною аспірацією капроновою ниткою. На 21-шу добу формувався виражений фіброз з тромбозом мікроциркуляторного русла, гіалінозом судин, відкладенням грубих неупорядкованих колагенових волокон. Вміст HIF-1α та димерної форми VEGF у легеневій тканині багаторазово перевищував показники інтактних тварин. Інгаляційне введення плазміногену призвело до істотного зниження HIF-1α і VEGF. Морфологічно це супроводжувалося зменшенням фіброзування, формуванням тонких упорядкованих колагенових структур, гіперплазією альвеолоцитів II типу та келихоподібних клітин. Таким чином, інгаляційне введення плазміногену забезпечувало ефективний фармакологічний обрив патологічного «гіпоксично-ангіогенного» кола пригніченням HIF-1α-опосередкованої транскрипції VEGF. Морфологічно це реалізувалося переходом репаративного процесу з фази патологічного фіброзування у фазу фізіологічної регенерації. Отримані результати обґрунтували перспективність застосування інгаляційного плазміногену як патогенетичного засобу для профілактики постзапального пневмосклерозу.

Ключові слова: фактор 1α, індукований гіпоксією; фактор росту ендотелію судин; плазміноген; інгаляційне введення; гостре легеневе запалення; фіброз легень; щури лінії Вістар.

ВСТУП

Гостре легеневе запалення та його найтяжча клінічна форма – гострий респіраторний дистрес-синдром (ГРДС) – залишаються однією з провідних причин критичних станів, характеризуючись летальністю на рівні 35–45% [1]. В основі патогенезу ГРДС лежить неконтрольована запальна відповідь, що призводить до пошкодження альвеолокапілярного бар'єра, ексудації та формування гіалінових мембран. Важливою особливістю сучасного розуміння ГРДС є визнання тісного зв'язку між імунотромбозом та розвитком рефрактерної тканинної гіпоксії, яка виступає тригером подальшого патологічного ремоделювання легень [2].

Центральним молекулярним сенсором, що адаптує клітину до дефіциту кисню, є фактор 1α, індукований гіпоксією (HIF-1α). За умов запального набряку та мікроциркуляторних розладів стабілізація HIF-1α ініціює транскрипцію широкого спектра генів, серед яких ключову роль відіграє фактор росту

© Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, 2026

ендотелію судин (VEGF) [3]. Надмірна активація осі HIF-1α/VEGF стимулює патологічний ангіогенез та підвищує судинну проникність, що сприяє хронізації запалення та активує фібробласти, призводячи до дифузного фіброзу паренхіми – критичного ускладнення, яке визначає довгостроковий прогноз виживання пацієнтів [2, 3].

Разом із гіпоксією, провідною ланкою пошкодження легень є локальний дефіцит фібринолізу. Накопичення екстраваскулярного фібрину не лише створює механічну перешкоду газообміну, а й слугує матриксом для міграції запальних клітин. Нещодавні дослідження вказують на те, що відновлення активності плазміну безпосередньо в осередку запалення може перервати «хибне коло» запалення–тромбоз–гіпоксія [4, 5]. Інгаляційне введення плазміногену можна розглядати як перспективну стратегію, що дасть змогу досягти високої локальної концентрації проферменту з мінімальним ризиком системних геморагій. Проте вплив екзогенного плазміногену на динаміку ключових маркерів гіпоксії та ангіогенезу за умов тривалого запалення залишається недостатньо висвітленим.

Метою нашого дослідження було встановлення впливу курсового інгаляційного введення плазміногену на тканинний вміст HIF-1α та VEGF на моделі ліпополісахарид-індукованого гострого запалення легенів у щурів.

МЕТОДИКА

При виконанні роботи керувалися нормами та принципами Директиви 2010/63 ЄС із захисту тварин, Гельсінкської декларації (2008) та вимогами чинного законодавства України. Тварин утримували на стандартному раціоні в умовах віварію Національного медичного університету імені О.О. Богомольця. На проведення дослідження було отримано дозвіл комісії з біоетичної експертизи та етики наукових досліджень Національного медичного університету імені О.О. Богомольця (протокол № 200 від 24.10.2025 р.).

Моделювання гострого легеневого запалення здійснено за раніше описаною методикою введенням в трахею капронової нитки (аспіраційна бронхопневмонія) на тлі розвитку системної запальної відповіді [6]. Для загострення патологічного процесу виконували попереднє системне введення ліпополісахариду (ЛПС; “Sigma-Aldrich”, США) внутрішньоочеревинно в дозі 250 мг/кг за 1 та 2 доби до оперативного втручання, а також ендотрахеальну ін’єкцію ЛПС під час операції, після введення в трахею капронової нитки, у дозі 12,5 мг/кг у 50 мкл фізіологічного розчину.

Для дослідження використано 25 щурів-самців лінії Вістар масою 180–190 г, яких випадковим чином поділяли на групи: хибнооперовані тварини, яким виконували всі хірургічні маніпуляції, крім введення у трахею капронової нитки та розчину ЛПС (контроль; n = 5), та тварини з моделюванням гострого легеневого запалення (дослід; n = 20). До 5-ї доби на тлі розвитку гострого легеневого запалення загинуло 5 тварин дослідної групи (25%). На 5-ту добу тварин, що вижили (n = 15), випадковим чином розподілили на 2 підгрупи, яким надалі виконували інгаляційне введення розчину: у підгрупі 1 – фізіологічного розчину (плацебо-контроль; n = 7); у підгрупі 2 – розчину плазміногену (n = 8). Плазміноген отримували з донорської плазми за допомогою афінної хроматографії на Lys-Sepharose 4B (“Cytiva Science”, Швеція) [7, 8].

Введення розчину плазміногену здійснювали інгаляційно на оригінальному приладі, у якому в маску, що щільно фіксувалася на голові тварини, подавали зволожене повітря, яке попередньо проходило через ємність із підігрітим фізіологічним розчином, що містив препарат. Проведені розрахунки показали, що за 15 хв при атмосферному тиску 750–755 мм рт. ст., вологості повітря

55–60% та температурі розчину 37°С у маску у вигляді аерозолю подавали 4 мкл розчину, що в перерахунку на концентрацію препарату становило 0,06 мкг. Перерахунок на масу тіла дав змогу визначити, що кожна тварина під час однієї інгаляції тривалістю 15 хв отримувала дозу 0,3 мкг/кг.

Інгаляції проводили щоденно, починаючи з 5-ї доби після операції. Протягом 3 тиж після операції визначали загальний стан тварин, ректальну температуру, ступінь ціанозу, наявність задишки, частоту дихальних рухів, аускультативні прояви. Тварин виводили з експерименту на 21-шу добу спостереження під глибоким тіопенталовим знеболюванням. Розтинали грудну порожнину, легені відсепаровували та поміщали в 10%-й розчин нейтрального формаліну. Серійні парафінові зрізи забарвлювали гематоксиліном та еозином, а також для виявлення сполучної тканини – за Ван Гізоном та азаном трихром (за Гейденгайном). Світлову мікроскопію проводили на світлооптичному мікроскопі "Olympus BX 40", додатково обладнаному цифровою камерою "Olympus C3030-ADU" та програмним забезпеченням "Olympus DP-Soft".

Вміст VEGF і HIF-1α у лізатах тканини визначали методом імуноблотингу. Зразки тканини витримували в скрапленому азоті, подрібнювали та гомогенізували в 50 ммоль Tris-HCl буфері (pH 7,4) з додаванням інгібіторів фосфатаз та протеаз ("ThermoScientific", США). Електрофорез здійснювали у 8%-му поліакриламідному гелі з додецилсульфатом натрію в камері для вертикального гель-електрофорезу ("BioRad", США). Протеїни з гелю переносили на нітроцелюлозну мембрану за допомогою електроблоту. Мембрани інкубували з моноклональними антитілами до VEGF (no. MA5-12184, mouse, "Invitrogen", США) і HIF-1α (no. HPA001275, rabbit, "Sigma Aldrich", США). Антитіла до актину (β-actin, no. MA5-15739, mouse, "Invitrogen", США) використовували для його детекції як контролю нанесення протеїну. Після первинної інкубації мембрани відмивали та обробляли антивидовими вторинними антитілами, кон'югованими з пероксидазою хрону ("Invitrogen", США). Напівкількісний аналіз проводили денситометрично, використовуючи програмне забезпечення TotalLab (TL120, "Nonlinear Inc", США). Результати імуноблот-аналізу виражали в умовних одиницях відносно контрольного значення оптичної густини відповідної поліпептидної зони на блотограмі, нормованої за вмістом β-актину в кожному зразку.

Для статистичного аналізу застосовували програмне забезпечення Statistica 10 ("StatSoft, Inc.", США). Розраховували середні значення та їх стандартні похибки. Вибіркові середні порівнювали із застосуванням дисперсійного аналізу (ANOVA), вірогідними вважали значення при $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ

Уже під час введення розчину ЛПС та безпосередньо після цього у тварин спостерігали порушення дихання у вигляді асинхронних частих глибоких вдихів із активним залученням дихальних м'язів і діафрагми. При аускультації були виражені вологі хрипи. Надалі стан тварин погіршувався, з 2-3-ї доби дихання ставало поверхневим, утрудненим, частим (до 102–150 хв$^{-1}$); з'являлися дистантні хрипи, аускультативно вислуховувалася крепітація; розвивався виражений ціаноз, млявість та зниження орієнтовно-рухової активності, була відмічена гіпертермія (37,8–38,5°С).

Післяопераційний період у лікованих тварин проходив з меншою вираженістю клінічних симптомів, ніж у контрольній групі, хоча також були наявні ціаноз, задишка і вологи хрипи; крепітації не було. Зафіксовано загибель 5 тварин (25%) у термін до початку лікування (до 5-ї доби післяопераційного періоду). Після початку інгаляційного лікування летальності у тварин обох підгруп не було.

Детальна динаміка морфологічних змін при розвитку гострого легеневого запалення у цій експериментальній моделі описана нами в попередніх публікаціях [6, 9]. Ендотрахеальне введення ЛПС ініціювало розвиток гострого ексудативно-геморагічного запалення, що мало ознаки гіперімунної реакції з пошкодженням судин мікроциркуляторного русла та міжальвеолярних перетинок. На 14–21-шу добу наростали прояви продуктивного запалення, виявлявся дифузний фіброз паренхіми. Морфологічна картина в контрольній групі на 21-шу добу спостереження в цілому відповідала описаним проявам (рис. 1, а).

Відзначалося повнокров'я судин мікроциркуляторного русла міжальвеолярних перетинок із тромбозом, ектазія венул. Стінка судинних структур середнього та дрібного

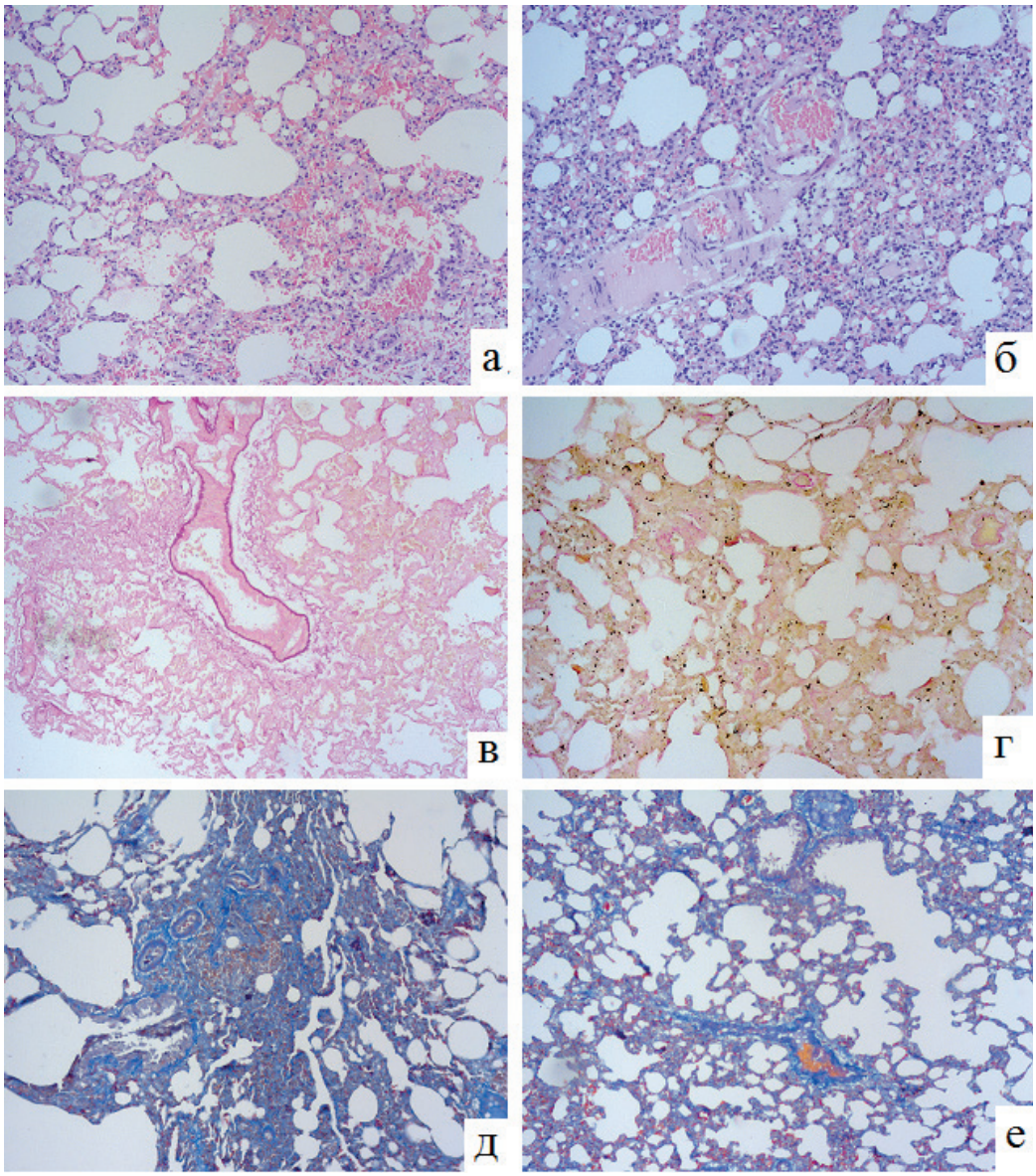


Рис. 1. Мікропрепарати легені щура. Гостре експериментальне запалення, 21-ша доба. Забарвлення – гематоксилін-еозин (а, б), за Ван-Гізоном (в, г) і азан трихромом (д, е) ×100; а, в, д – інгаляційне введення фізіологічного розчину (плацебо-контроль); б, г, е – інгаляційне введення плазміногену

калібру потовщена через набряк та осередки накопичення еозинофільних щільних мас, що відповідало формуванню фіброзу та, вірогідно, – відкладанню судинного гіаліну. Паренхіма легенів із явищами дистелектазів – ателектатично змінені ділянки (з повним перекриттям альвеолярних просвітів) чергувалися з емфізематозно дилатованими альвеолами із стоншенням та розривами перетинок. Переважна більшість останніх мала ознаки фібробластичної активності з появою фібрилярної сітки в міжальвеолярних перетинках, що свідчило про їх активне фіброзування.

У вогнищах емфіземи деякі просвіти альвеол містили геморагічний ексудат, відмічена гіперплазія епітеліоцитів II типу. Просвіти бронхів мали вогнищеві ознаки транзиторної бронхоектазії. Стінка бронхів рясно інфільтрована нейтрофільними лейкоцитами, з домішкою мононуклеарів. Слизова оболонка бронхів та бронхіол з ознаками паренхіматозної дистрофії та гіперсекреторної активності (внаслідок гіперплазії респіраторного війкового епітелію та келиховидних клітин), з осередками десквамації. У просвіті бронхів та бронхіол велика кількість змішаного ексудату, який був сформований слизом, еритроцитами, нейтрофілами, лімфоплазмоцитарними клітинами і поодинокими макрофагами. Перибронхіально був виражений інтерстиційний набряк та реактивна гіперплазія лімфоїдних фолікулів змішаного характеру. Подекуди в паренхімі легень наявні ділянки хронічного продуктивного запального процесу із формуванням резорбтивних гранульом. Вказані зміни свідчили на користь розвитку гострої бронхопневмонії з організацією у вигляді фіброзу паренхіми та осередками гіалінозу судин.

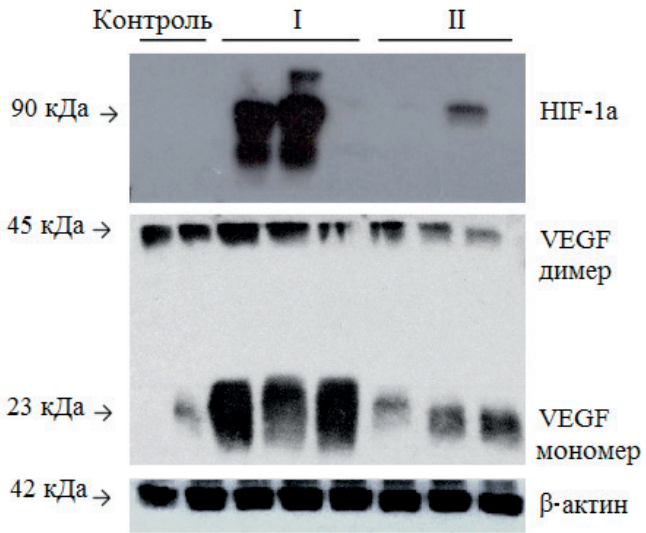
Дія плазміногену також супроводжувалася загальними ознаками і відповідала гострій бронхопневмонії (див. рис. 1, б). Натомість, відмічена менша ступінь ексудативно-геморагічного запалення і фіброзування, альвеоли чисті від слизу і клітинного дендриту, переважно емфізематозно дилатовані. Наявні ознаки реактивних змін альвеолоцитів через епітеліоцити I і II типів, що проявлялося клітинною гіперплазією. Також визначено активну гіперплазію респіраторного війкового епітелію та келихоподібних клітин слизової бронхів. Особливістю цієї підгрупи була виражена ектазія венул та їх повнокров'я. Наявна картина відповідала стадії активної тканинної регенерації після гострого легеневого запалення.

Для уточнення впливу запропонованої терапії на розвиток фіброзу було застосовано забарвлення легень за Ван Гізоном (див. рис. 1, в, г). Більше фіброзування було визначено в підгрупі з введенням фізіологічного розчину. Грубі товсті колагенові волокна, які мали різне спрямування та неупорядковану структуру, формували муфти навколо судин і бронхів, активно проростали в легеневу паренхіму. У лікованих тварин інтенсивність забарвлення була меншою, ніж у контролі. Тонкі колагенові волокна виявлялися в зовнішніх шарах судин і бронхів, більш тонкі еластинові волокна – у складі слизової бронхів і бронхіол.

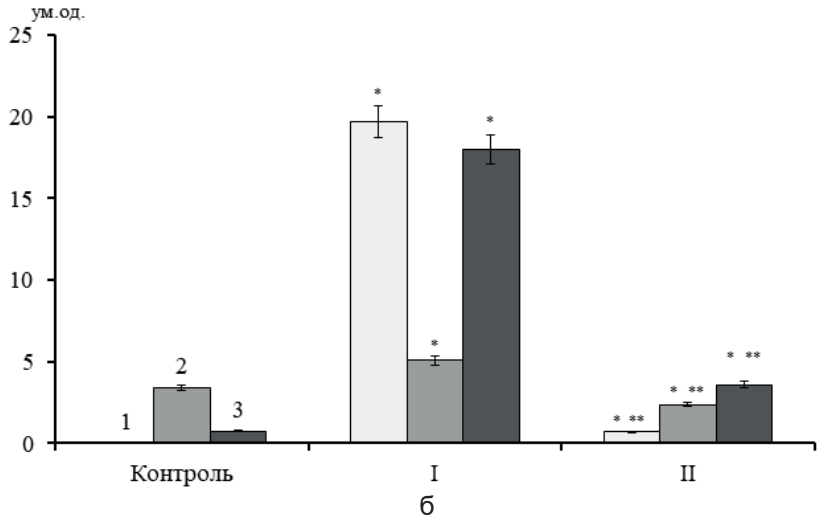
Спеціальне забарвлення азаном трихрому крім колагенових волокон дало змогу виявляти й ретикулінові (див. рис. 1, д, е). Результати загалом відповідали таким при забарвленні за Ван Гізоном, але розподіл і товщина волокон були меншими у лікованих тварин.

Для оцінки можливих молекулярних механізмів лікувального ефекту запропонованої терапії було досліджено вміст у тканині легень HIF-1α і VEGF. Раніше нами було показано, що при застосованій моделі гострого легеневого запалення він динамічно змінювався [10]. Збільшення експресії HIF-1α на ранніх стадіях гострого легеневого запалення мало пік на 5-ту добу та ініціювало розвиток гіпоксичноіндукованих морфологічних змін із подальшою активацією VEGF-опосередкованого ангіогенезу та формуванням патологічного фіброзу легеневої паренхіми.

Вміст HIF-1α було оцінено в групах тварин на 21-шу добу. У тканині легень контрольної групи він не визначався (рис. 2). У групі з введенням фізіологічного розчину він був значно збільшеним ($P < 0,001$). За умов лікування вміст HIF-1α суттєво знижувався (у 27 разів; $P < 0,05$). Вміст активної димерної форми VEGF збільшувався порівняно з контролем (у 1,5 раза; $P < 0,05$). Інгаляції плазміногену знижували вміст димерної форми VEGF у 2,1 раза порівняно зі значеннями при введенні фізіологічного розчину. Мономерна форма VEGF, яка характеризує його синтез, як і HIF-1α, у контрольній групі майже не визначалася. У групі «плацебо-контролю» вона, подібно до HIF-1α, багаторазово збільшувалася ($P < 0,001$). Застосоване лікування суттєво зменшувало вміст мономера VEGF (у 5 разів; $P < 0,001$ порівняно зі значеннями при



а



б

Рис. 2. Вміст у легеневій тканині HIF-1α (1), димерної (2) і мономерної (3) форм VEGF у контролі, при інгаляції фізіологічного розчину (I) і плазміногену (II); а – приклади репрезентативних блотограм β-актину, HIF-1α, димера і мономера VEGF; б – результати денситометрії HIF-1α, димера і мономера VEGF (нормовані за β-актином; ум.од.);*$P < 0,05$ щодо контролю; **$P < 0,05$ щодо тварин, яким вводили фізіологічний розчин (I)

введенні фізіологічного розчину).

Отже, гостре запалення легень на тлі введення фізіологічного розчину характеризувалося значним збільшенням експресії HIF-1α, чому відповідала динаміка мономерної форми VEGF. Плазміноген суттєво зменшував вміст і HIF-1α, і обох форм VEGF.

ОБГОВОРЕННЯ

Застосована в дослідженні експериментальна модель гострого легеневого запалення, що базується на комбінованому системному та ендотрахеальному введенні ЛПС у поєднанні з механічною аспірацією, продемонструвала високу релевантність клінічному перебігу ГРДС. Летальність на рівні 25% до 5-ї доби експерименту підтвердила тяжкість індукованого ураження та формування системної запальної відповіді. Такий рівень смертності є валідованим показником для моделей критичних станів, оскільки він відображає достатню глибину патологічного процесу, зберігаючи при цьому репрезентативність вибірки для оцінки терапевтичної ефективності фармакологічних агентів [11].

Принциповим науковим результатом цієї роботи є вперше виконана експериментальна оцінка впливу надмалої дози інгаляційного плазміногену на ключову ланку молекулярної адаптації до гіпоксії – сигнальну вісь HIF-1α/VEGF. Вибір способу введення та використання мікродоз ґрунтувалися на концепції локальної біофармацевтичної активації фібринолізу без ризику системних геморагічних ускладнень, що узгоджується із сучасними даними щодо збереження ферментативної стабільності плазміногену при аерозолізації [12].

Нами встановлено, що курсове введення плазміногену спричинило суттєву регресію маркерів гіпоксії та ангіогенезу, що свідчило про потужний вплив препарату на кисневий гомеостаз легеневої тканини. Паралельне зменшення активної димерної та мономерної форм VEGF вказувало на пригнічення розвитку фіброзу і набряку, які активуються через HIF-1α-опосередковану вісь. Морфологічним підтвердженням цих результатів слугував перехід від грубого фіброзування та гіалінозу до активної регенерації альвеолярного епітелію й гіперплазії альвеолоцитів II типу під впливом плазміногену.

Такі результати дали змогу розглядати запропонований підхід як ефективний інструмент запобігання незворотному ремоделюванню легень. Вони корелювали із першими клінічними спробами застосування небулізованих активаторів плазміногену при тяжкій дихальній недостатності [13], проте наше дослідження розширило розуміння механізмів їхньої дії, виводячи їх за межі суто фібринолітичного ефекту в площину модуляції молекулярної відповіді на гіпоксію.

Патофізіологічним підґрунтям персистенції патології є формування замкненого циклу взаємного посилення тканинної гіпоксії та фіброзу. Порушення дифузії кисню внаслідок набряку, мікротромбозу й фіброзного потовщення альвеолярно-капілярної мембрани створює умови для стабілізації HIF-1α [14]. Стабілізований HIF-1α активує транскрипцію VEGF, що стимулює проліферацію міофібробластів та надмірне відкладення колагену, а це також ще більше погіршує дифузію газів і поглиблює гіпоксію [15, 16].

Молекулярне підтвердження цього механізму було отримано нами за допомогою імуноблотингу. Як було показано раніше [10], у цій моделі пік експресії HIF-1α припадав на 5-ту добу, однак він залишався підвищеним до 21-ї доби, що пояснювало прогресуючий характер фіброзу. У групі тварин без лікування спостерігалася хронічна персистенція HIF-1α, який виступав ключовим драйвером патологічного ремоделювання і формував стійке «гіпоксично-ангіогенне коло»: тканинна гіпоксія стабілізує HIF-1α, що активує VEGF-опосередкований ангіогенез і фіброгенез, наслідком чого є відкладення колагену та гіаліноз судин, які ще більше порушують дифузію кисню й поглиблюють гіпоксію.

Істотне підвищення вмісту HIF-1α супроводжувалося вираженими змінами вмісту VEGF. Кратне збільшення мономерної форми VEGF свідчило про активний синтез цього фактора de novo, яке було зумовлено через HIF-1α-залежну транскрипцію [17]. Паралельне підвищення активної димерної форми VEGF підтримувало патологічну судинну проникність і могло стимулювати проліферацію міофібробластів — ключових клітин фіброгенезу [18]. Таким чином, саме персистуюча активація HIF-1α забезпечувала надмірну експресію VEGF, що зумовлювало прогресуючий пневмосклероз [2].

Для пояснення впливу інгаляційного плазміногену на транскрипційний фактор HIF-1α може бути запропоновано дві взаємопов'язані гіпотези. Перша ґрунтується на прямому фібринолітичному ефекті плазміну: лізис фібринових тромбів у мікроциркуляторному руслі відновлює перфузію гіпоксичних зон, що зменшує утворення HIF-1α за умов нормоксії [19]. Друга гіпотеза передбачає опосередкований вплив через активацію матриксних металопротеїназ (ММР). Плазмін активує проММР, які руйнують надлишковий колаген [20], що підтверджено нами морфологічно: при лікуванні спостерігалися тонкі впорядковані колагенові волокна замість грубих неорганізованих структур, характерних для контрольної групи.

Диференційований вплив інгаляційного плазміногену на різні форми VEGF є додатковим доказом перепрограмування клітинної відповіді. Їх співдружнє зниження свідчило, що препарат діє на рівні транскрипції, а не через інактивацію готового протеїну. Оскільки мономерна форма відображає синтез de novo, її різке зниження є прямим наслідком регресії транскрипційної активності HIF-1α, що підтверджувало перехід тканини з режиму гіпоксичної стрес-відповіді до нормоксичного функціонування [2, 18].

Молекулярна регресія корелювала з докорінною зміною морфологічної картини. У групі з лікуванням спостерігалося формування тонких упорядкованих колагенових структур, відсутність клітинного детриту та виражена гіперплазія альвеолоцитів II типу й келихоподібних клітин, що вказувало на активацію фізіологічної репаративної програми замість патологічного рубцювання [21].

Отже, інгаляційний плазміноген реалізує терапевтичний ефект через подвійний механізм – пряму фібринолітичну дію та опосередкований вплив на ремоделювання позаклітинного матриксу. Це в сукупності забезпечує стратегічну зміну вектора репарації: зниження профібротичної активності осі HIF-1α/VEGF та відновлення нормальної архітектоніки легень завдяки переключенню процесу з фази патологічного фіброзу у фазу фізіологічної регенерації.

Отримані результати узгоджувалися з даними наших попередніх досліджень [10]. Наразі принципово новим було те, що вперше продемонстровано можливість фармакологічного обриву зазначеного сигналу на пізніх стадіях через інгаляційне введення плазміногену. Це вигідно вирізняє запропонований підхід на тлі інших антифібротичних стратегій, які або діють повільніше, або не впливають безпосередньо на синтез VEGF de novo. Сучасні огляди підтверджують, що HIF-1α залишається ключовим драйвером легеневого фіброзу, однак трансляція прямих HIF-інгібіторів у клініку досі не досягнута [22]. Варто зазначити, що плазміноген зберігає активність за умов кисневої терапії, що є критичним для застосування при ГРДС [12].

Слід визнати певні обмеження цього дослідження. По-перше, відсутність проміжних точок спостереження між 5-ю та 21-ю добою не дало змогу оцінити кінетику зниження HIF-1α під впливом плазміногену. По-друге, висновки щодо тканинної гіпоксії ґрунтуються на непрямих ознаках (вміст HIF-1α), без прямого вимірювання вмісту кисню у легеневій тканині. По-третє, ефективна доза плазміногену (0,06 мкг на інгаляцію, або 0,3 мкг/кг) є експериментальною та потребує масштабування з урахуванням міжвидових

фармакокінетичних відмінностей.

Попри зазначені обмеження, наведені результати дають можливість розглядати інгаляційний плазміноген як патогенетичний засіб для профілактики постзапального фіброзу легень — стану, що часто ускладнює перебіг тяжких пневмоній, включно з COVID-19-асоційованим ГРДС [13]. Перевагами запропонованого підходу є технічна простота інгаляційного введення, використання мікродоз препарату та мінімальний ризик системних ускладнень, що особливо важливо для пацієнтів у критичному стані. Подальші дослідження мають бути спрямовані на оптимізацію режиму дозування, вивчення довготривалих наслідків терапії та проведення контрольованих клінічних випробувань у пацієнтів із ризиком розвитку легеневого фіброзу після ГРДС.

ВИСНОВКИ

1. Експериментальне гостре легеневе запалення на 21-шу добу характеризувалося формуванням стійкого «гіпоксично-ангіогенного кола», морфологічним субстратом якого були тромбоз мікроциркуляторного русла, гіаліноз судин та дифузне відкладення грубих неупорядкованих колагенових волокон. Молекулярно цьому відповідало багаторазове збільшення вмісту HIF-1α та активної димерної форми VEGF.

2. Курсове інгаляційне введення плазміногену в надмалих дозах (0,3 мкг/кг) забезпечувало ефективний фармакологічний обрив зазначеного патогенетичного циклу. Це виражалося у істотному зниженні легеневого вмісту HIF-1α та VEGF. Різке зменшення вмісту мономерної фракції VEGF підтверджувало пригнічення синтезу фактора на рівні транскрипції внаслідок регресії активності HIF-1α.

3. Молекулярні ефекти інгаляційного плазміногену відповідали морфологічній трансформації репаративного процесу з фази патологічного фіброзування на фазу фізіологічної регенерації. Це проявляється заміщенням грубих колагенових депозитів тонкими впорядкованими структурами та активацією регенераторних клітинних ліній (гіперплазія альвеолоцитів II типу та келихоподібних клітин). Отримані результати обґрунтовували перспективність застосування інгаляційного плазміногену як патогенетичного засобу для профілактики постзапального пневмосклерозу.

Дослідження виконано за ініціативою кафедри патофізіології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця (Київ, Україна) та фінансується за бюджетною програмою МОЗ України, державний реєстраційний номер 0122U001308.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of co-authors of the article.

D.S. Zyablitsev[1], A.O. Tikhomyrov[2], V.V. Mykhailovska[1]

EFFECT OF INHALED PLASMINOGEN ADMINISTRATION ON ACUTE PULMONARY INFLAMMATION IN RATS: INHIBITION OF THE HYPOXIC-ANGIOGENIC CASCADE AND FIBROGENESIS

[1]Bogomolets National Medical University, Kyiv;
[2]Palladin Institute of Biochemistry, NAS of Ukraine;
e-mail: denis898@ukr.net

Acute pulmonary inflammation (API) and acute respiratory distress syndrome (ARDS) are accompanied by severe hypoxemia, coagulopathy, and a high risk of post-inflammatory pulmonary fibrosis. A central role in the cellular response to hypoxia is played by hypoxia-inducible factor-1α (HIF-1α), which activates the transcription of vascular endothelial growth factor (VEGF), thereby promoting pathological angiogenesis, increased vascular permeability, and fibrogenesis. Inhaled administration of plasminogen may represent a promising approach to local fibrinolytic therapy in ARDS. The aim of this study was to evaluate the effect of inhaled plasminogen administration on pulmonary HIF-1α and VEGF content in a rat model of API. The study was performed on 45 male Wistar

rats in which API was induced by systemic and endotracheal administration of lipopolysaccharide combined with mechanical aspiration using a nylon thread. On day 21, pronounced fibrosis was observed, accompanied by microvascular thrombosis, vascular hyalinosis, and deposition of coarse, disordered collagen fibers. The content of HIF-1α and dimeric VEGF in lung tissue greatly exceeded the corresponding values in intact animals. Inhaled administration of plasminogen resulted in a reduction of HIF-1α and VEGF levels. Morphologically, this was accompanied by a desrease in fibrosis, formation of thin and organized collagen structures, and hyperplasia of type II alveolocytes and goblet cells. Thus, inhaled plasminogen administration provides an effective pharmacological interruption of the pathological hypoxic-angiogenic cycle through inhibition of HIF-1α-mediated VEGF transcription. Morphologically, this effect is manifested by a shift of the reparative process from pathological fibrosis toward physiological regeneration. These findings substantiate the potential of inhaled plasminogen as a pathogenetically targeted agent for the prevention of post-inflammatory pneumosclerosis.

Key words: hypoxia-inducible factor 1α; vascular endothelial growth factor; plasminogen; inhalation administration; acute lung inflammation; pulmonary fibrosis; Wistar rats.

REFERENCE

1. Livingstone S, Lemberg C, Kozlowski P, Singh G, Sahi H, Serrano K. Acute respiratory distress syndrome: current understanding and future directions in treatment. Crit Care Med. 2021;49(7):1143-55. doi: 10.1097/CCM.0000000000004918.
2. Suresh MV, Balijepalli S, Solanki S, Aktay S, Choudhary K, Shah YM, Raghavendran K. Hypoxia-inducible factor 1α and its role in lung injury: Adaptive or maladaptive. Inflammation. 2023;46(2):491-508. doi: 10.1007/s10753-022-01769-z.
3. Zhang Y, Yu W, Ma Z, Kang L, Yao Q, Sun Z, Ma X. Role of IL33/HIF1α/VEGF in intermittent hypoxia-induced lung injury. Immunobiology. 2025;230(6):153132. doi: 10.1016/j.imbio.2025.153132.
4. Camprubí-Rimblas M, Tantinyà N, Guillamat-Prats R, Artigas A. Anticoagulant and fibrinolytic therapy in acute respiratory distress syndrome. Ann Transl Med. 2018;6(19):388. doi: 10.21037/atm.2018.09.22.
5. Vizzoni L, Migone C, Nesti SE, Bona ND, Franzini M, Brogi S, Calderone V, Fabiano A, Zambito Y, Mori F, Ferro B, Piras AM. Plasminogen-cyclodextrin aerosol for ARDS: activity retention in simulated oxygen therapy and inflammation-triggered clot lysis. Int J Pharm. 2025;686:126359. doi: 10.1016/j.ijpharm.2025.126359.
6. Ziablitsev DS. Morphogenesis of pulmonary damage in lipopolysaccharide-induced acute aspiration bronchopneumonia. Morphologia. 2021;15(4):48-55. [Ukrainian]. doi: 10.26641/1997-9665.2021.4.48-55.
7. Castellino FJ, Ploplis VA. Structure and function of the plasminogen/plasmin system. Thromb Haemost. 2005;93(4):647-54. doi: 10.1160/TH04-12-0842.
8. Tykhomyrov AA, Yusova EI, Diordieva SI, Korsa VV, Grinenko TV. Production and characteristics of antibodies against K1-3 fragment of human plasminogen. Biotechnol Acta. 2013;6(1):87-97. doi: 10.15407/biotech6.01.086.
9. Ziablitsev DS, Kostenko VO, Mykhaylovska VV, Likhodievsky VV, Kurchenko AI. Effect of experimental therapy on pulmonary content of hypoxia-inducible factor-1α and vascular growth factor in acute lung inflammation in rats. Fiziol Zh. 2026;72(1):3-15. [Ukrainian]. doi: 10.15407/fz72.01.003.
10. Ziablitsev DS, Mykhailovska VV, Kurchenko AI. Dynamics of the content of hypoxia-inducible factor-α (HIF-1α) and vascular growth factor (VEGF) in the pulmonary tissue during the development of hemorrhagic pneumonia with fibrosis. Med Sci Ukraine. 2025;3(21):94-105. [Ukrainian]. doi:10.32345/2664-4738.3.2025.10.
11. Özsoy Ş, Karakuş Yılmaz B, Sultan Oran D. Acute respiratory injury model in rats. J Istanbul Vet Sci. 2023;7(3):172-7. doi: 10.30704/http-www-jivs-net.1350614.
12. Vizzoni L, Migone C, Grassiri B, Zambito Y, Ferro B, Roncucci P, Mori F, Salvatore A, Ascione E, Crea R, Esin S, Batoni G, Piras AM. Biopharmaceutical assessment of mesh aerosolised plasminogen, a step towards ARDS treatment. Pharmaceutics. 2023;15(6):1618. doi: 10.3390/pharmaceutics15061618.
13. Chowdary P, Agarwal B, Peralta MR, Bhagani S, Lee S, Goldring J, et al. Nebulized recombinant tissue plasminogen activator (rt-PA) for acute COVID-19-induced respiratory failure: an exploratory proof-of-concept trial. J Clin Med. 2023;12(18):5848. doi: 10.3390/jcm12185848.
14. Huppert LA, Matthay MA, Ware LB. Pathogenesis of acute respiratory distress syndrome. Semin Respir Crit Care Med. 2019;40(1):31-9. doi: 10.1055/s-0039-1683996.
15. Li X, Zhang Q, Nasser MI, Xu L, Zhang X, Zhu P, He Q, Zhao M. Oxygen homeostasis and cardiovascular disease: A role for HIF? Biomed Pharmacother. 2020;128:110338. doi: 10.1016/j.biopha.2020.110338.
16. Whyte CS, Morrow GB, Mitchell JL, Chowdary P, Mutch NJ. Fibrinolytic abnormalities in acute respiratory distress syndrome (ARDS) and versatility of thrombolytic drugs to treat COVID-19. J Thromb Haemost. 2020;18(7):1548-55. doi: 10.1111/jth.14872.
17. Krock BL, Skuli N, Simon MC. Hypoxia-induced angiogenesis: good and evil. Genes Cancer. 2011;2(12):1117-33. doi: 10.1177/1947601911423654.
18. Barratt SL, Flower VA, Pauling JD, Millar AB. VEGF (vascular endothelial growth factor) and fibrotic lung disease. Int J Mol Sci. 2018;19(5):1269. doi: 10.3390/ijms19051269.
19. Idell S, Rahman NM. Intrapleural fibrinolytic therapy for pleural infection: current evidence and future directions. Ann Am Thorac Soc. 2021;18(5):771-8. doi: 10.1513/AnnalsATS.202008-1010FR.
20. Deryugina EI, Quigley JP. Cell surface remodeling by plasmin: a new function for an old enzyme. J Biomed Biotechnol. 2012;2012:564259. doi: 10.1155/2012/564259.
21. Guillamat-Prats R, Camprubí-Rimblas M, Puig F, Herrero

R, Tantinyà N, Serrano-Mollar A, Artigas A. Alveolar type II cells restore the alveolar epithelial barrier in acute lung injury. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2021;321(5):L912-26. doi: 10.1152/ajplung.00063.2021.

22. Suresh MV, Aggarwal V, Raghavendran K. The intersection of pulmonary vascular disease and hypoxia-inducible factors. Card Electrophysiol Clin. 2025;17(3):429-38. doi: 10.1016/j.ccep.2024.12.014.

Матеріал надійшов до редакції 05.05.2026