УЎК: 616.24-091.8:615.917:546.262.3-31:591.4-092.9

ЎТКИР ИС ГАЗИ БИЛАН ЗАҲАРЛАНИШНИНГ ЭКСПЕРИМЕНТАЛ МОДЕЛИНИ ЯРАТИШ ВА ЎПКА АСОРАТЛАРИНИ КОМПЛЕКС МОРФОЛОГИК БАҲОЛАШ УСУЛЛАРИ




Файзиев Юсуфжон Қадирович[1], Қурбонов Обид Махсудович[2]
1 - Бухоро вилояти патологик анатомия бюроси, Ўзбекистон Республикаси, Бухоро ш.;
2 - Абу Али ибн Сино номидаги Бухоро давлат тиббиёт институти, Ўзбекистон Республикаси, Бухоро ш.

СОЗДАНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ОСТРОГО ОТРАВЛЕНИЯ УГАРНЫМ ГАЗОМ И МЕТОДЫ КОМПЛЕКСНОЙ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ ЛЁГОЧНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ

Файзиев Юсуфжон Кадирович[1], Курбанов Обид Махсудович[2]
1 - Бюро патологической анатомии Бухарской области, Республика Узбекистан, г. Бухара;
2 - Бухарский государственный медицинский институт имени Абу Али ибн Сино,
Республика Узбекистан, г. Бухара

DEVELOPMENT OF AN EXPERIMENTAL MODEL OF ACUTE CARBON MONOXIDE POISONING AND METHODS FOR THE COMPREHENSIVE MORPHOLOGICAL ASSESSMENT OF PULMONARY COMPLICATIONS

Fayziyev Yusufjon Qadirovich[1], Qurbonov Obid Maxsudovich[2]
1 - Bukhara Regional Bureau of Pathological Anatomy, Republic of Uzbekistan, Bukhara;
2 - Bukhara State Medical Institute named after Abu Ali ibn Sino, Republic of Uzbekistan, Bukhara

e-mail: fayziyevyusuf590@gmail.com

Резюме. *Мақсад: ингаляцион ис гази интоксикациясининг такрорланувчан экспериментал моделини ишлаб чиқиш ва ўпка тўқимасини комплекс морфологик, гистокимёвий, иммуногистокимёвий ва морфометрик баҳолаш методикасини баён этиш. Материал ва усуллар: тадқиқот 2024–2026 йилларда Бухоро давлат тиббиёт институтининг илмий-тадқиқот лабораториясида ARRIVE 2.0 тавсиялари асосида ўтказилди. Иккала жинсга мансуб 100 та оқ зотсиз каламуш ёши (3 ойлик – 240–270 г, 9 ойлик – 350–380 г) ва кузатув муддати бўйича учта гуруҳга тақсимланди: назорат (n=20), яқин муддат – заҳарланишдан 6 соат кейин (n=40) ва узоқ муддат – 7 суткадан кейин (n=40). Интоксикация герметик ингаляцион камерада 0,4–0,5% (4000–5000 ppm) концентрациядаги ис гази билан, кислород ва CO миқдорини узлуксиз мониторинг қилиш шароитида ҳосил қилинди. Ўпка кесмалари гематоксилин-эозин ва алциан кўки билан бўялди, CD68 ва Caspase-3 экспрессияси QuPath 0.7.0 дастурида миқдорий баҳоланди, морфометрия ATS/ERS тавсияларига мувофиқ бажарилди. Натижалар: тажриба гуруҳларидаги умумий леталлик 5,0% ни (80 тадан 4 та ҳайвон) ташкил этди: яқин муддатли гуруҳда 7,5%, узоқ муддатли гуруҳда 2,5%; нобуд бўлган ҳайвонларнинг 3 таси 9 ойлик гуруҳга тўғри келди. Гистологик проводканинг тўлиқ сикли 110,5 соатни ташкил этди. Хулоса: таклиф этилган модел ўткир, аммо якуний ўлимга олиб келмайдиган интоксикацияни такрорланувчан тарзда ҳосил қилади, комплекс морфологик баҳолаш эса ўпкадаги патологик жараённи структуравий, гистокимёвий ва ҳужайравий даражаларда тавсифлаш имконини беради.*

Калит сўзлар: *ис гази, экспериментал модел, ингаляцион интоксикация, оқ зотсиз каламушлар, ўпка, алциан кўки, иммуногистокимё, CD68, Caspase-3, морфометрия, QuPath, ARRIVE 2.0.*

Abstract. *Aim: to develop a reproducible experimental model of inhalational carbon monoxide (CO) intoxication and to describe the methodology for a comprehensive morphological, histochemical, immunohistochemical and morphometric assessment of lung tissue. Materials and methods: the study was carried out in 2024–2026 at the research laboratory of Bukhara State Medical Institute in accordance with the ARRIVE 2.0 recommendations. One hundred outbred white rats of both sexes were allocated by age (3 months, 240–270 g; 9 months, 350–380 g) and observation period into three groups: control (n=20), early period – 6 hours after poisoning (n=40) and late period – 7 days after poisoning (n=40). Intoxication was induced in a sealed inhalation chamber at a CO concentration of 0.4–0.5% (4000–5000 ppm) with continuous monitoring of oxygen and CO levels. Lung sections were stained with haematoxylin-eosin and alcian*

blue, CD68 and Caspase-3 expression was quantified in QuPath 0.7.0, and morphometry followed the ATS/ERS recommendations. Results: overall lethality in the experimental groups was 5.0% (4 of 80 animals): 7.5% in the early and 2.5% in the late group; 3 of the 4 animals that died were 9 months old. The full histological processing cycle took 110.5 hours. Conclusion: the proposed model reproducibly induces acute but non-lethal intoxication, and the comprehensive morphological assessment characterises the pulmonary pathological process at the structural, histochemical and cellular levels.
Keywords: *carbon monoxide, experimental model, inhalational intoxication, outbred white rats, lung, alcian blue, immunohistochemistry, CD68, Caspase-3, morphometry, QuPath, ARRIVE 2.0.*

Кириш. Ис гази билан ўткир заҳарланиш жаҳон миқёсида олдини олиш мумкин бўлган ўлим сабабларидан бири бўлиб қолмоқда: GBD-2021 маълумотларига кўра, 2021 йилда дунёда 28 900 та ўлим ҳолати қайд этилган [18, 22, 37, 39]. Заҳарланишдан омон қолган беморларда узоқ муддатли респиратор оқибатлар – сурункали обструктив ўпка касаллиги ва ўпка саратони хавфининг ишончли ортиши популяцион когорт тадқиқотларида тасдиқланган [8, 23, 29]. Бу ис гази таъсирининг ўпка тўқимасидаги морфологик асосларини экспериментал шароитда чуқур ўрганиш заруратини белгилайди [38]. Ис гази билан заҳарланишда ички аъзолардаги морфологик ўзгаришлар маҳаллий ва МДҲ муаллифлари томонидан ҳам ўрганилган [1–5, 11, 45].

Бироқ мавжуд экспериментал ишлар методологик жиҳатдан ниҳоятда хилма-хил. Турли тадқиқотларда ис гази концентрацияси 400 дан 24 000 ppm гача, экспозиция давомийлиги эса 5 дақиқадан 3 соатгача ўзгариб туради [14, 28]. Токсикантни етказиб бериш усули ҳам бир хил эмас: герметик камера, динамик оқимли камера ёки трахеостомик най қўлланилади. Бундай хилма-хиллик натижаларни тўғридан-тўғри таққослашни деярли имконсиз қилади ва мета-аналитик умумлаштиришга тўсқинлик қилади.

Иккинчи методологик муаммо – ўпка тўқимасини баҳолаш усулларининг стандартлаштирилмаганлиги. Кўпчилик ишларда фақат гематоксилин-эозин билан бўялган препаратларнинг сифат тавсифи билан чекланилади; морфометрик ўлчовлар ва иммуногистокимёвий маркерлар нисбатан кам қўлланилади. ATS/ERS нинг ўпка тузилишини миқдорий баҳолаш бўйича расмий ҳужжатида кўрсатилганидек, морфометрик кўрсаткичларсиз олинган хулосалар субъектив талқинга очиқ қолади [24].

Учинчидан, тажриба ҳайвонларининг ёши кўпчилик ишларда назорат қилинмайдиган ўзгарувчи бўлиб қолмоқда, ҳолбуки эпидемиологик маълумотлар ис гази билан заҳарланишдан ўлим кўрсаткичи ёш ортиши билан деярли 18 баравар ошишини кўрсатади [22]. Шу сабабли ёш омилини экспериментал дизайнга киритиш патогенетик жиҳатдан асосланган ёндашув ҳисобланади.

Тадқиқотнинг мақсади: ингаляцион ис гази интоксикациясининг такрорланувчан, биоэтик талабларга тўлиқ жавоб берувчи экспериментал моделини батафсил баён этиш ҳамда ўпка тўқимасини комплекс морфологик, гистокимёвий, иммуногистокимёвий ва морфометрик баҳолаш методикасини ARRIVE 2.0 тавсиялари доирасида тавсифлаш [33, 34].

Материал ва усуллар. Тадқиқот дизайни ва биоэтик жиҳатлар. Тадқиқот 2024–2026 йилларда Абу Али ибн Сино номидаги Бухоро давлат тиббиёт институтининг илмий-тадқиқот лабораториясида ўтказилди. Дизайн бўйича иш назорат гуруҳи билан таққосланадиган, проспектив, икки омилли (ёш × кузатув муддати) экспериментал тадқиқот ҳисобланади. Лаборатория ҳайвонлари билан барча манипуляциялар Ўзбекистон Республикаси Соғлиқни сақлаш вазирлиги ҳузуридаги Этика қўмитаси рухсати асосида амалга оширилди. Тадқиқотни режалаштириш, ўтказиш ва натижаларини баён этишда ARRIVE 2.0 тавсияларининг «Essential 10» тўпламига риоя қилинди [33, 34]. 3R принципи (Replacement, Reduction, Refinement) доирасида ҳайвонлар сони статистик аҳамиятлиликни таъминловчи минимал даражада белгиланди, азоб-уқубатни камайтириш мақсадида барча инвазив босқичлар умумий наркоз остида бажарилди. Нобуд бўлган ҳайвонларнинг жасадлари далолатномага мувофиқ 20% ли хлор эритмаси билан зарарсизлантирилиб, белгиланган тартибда йўқ қилинди.

Лаборатория ҳайвонлари ва гуруҳларга тақсимлаш. Тажрибага иккала жинсга мансуб 100 та оқ зотсиз каламуш жалб қилинди. Ҳайвонлар ёши ва тана вазнига қараб иккита гуруҳга ажратилди: 3 ойлик (240–270 г) ва 9 ойлик (350–380 г). Барча ҳайвонлар бир хил виварий шароитида, стандарт рацион, оптимал ҳарорат ва намлик ҳамда эркин сув ичиш имконияти билан сақланди. Тажрибадан олдин барча ҳайвонлар 7–10 кун давомида лаборатория шароитига мослашиш давридан ўтказилди; бу давр мобайнида уларнинг умумий ҳолати, тана вазни ва ҳаракат фаоллиги мунтазам кузатиб борилди. Касаллик белгилари аниқланган ёки тана вазни белгиланган чегарадан четлашган ҳайвонлар тажрибага киритилмади (1-жадвал).

Жадвал 1. Лаборатория ҳайвонларининг тажриба гуруҳлари ва ёш бўйича тақсимоти

Гуруҳ	Тажриба мазмуни	3 ойлик	9 ойлик	Жами
I – назорат	Ис гази таъсир қилдирилмаган соғлом ҳайвонлар	10	10	20
II – яқин муддат	Заҳарланишдан кейин 6 соат ичида текширилган ҳайвонлар	20 (1)	20 (2)	40 (3)
III – узоқ муддат	Заҳарланишдан кейин 7 сутка давомида кузатилган ҳайвонлар	20 (0)	20 (1)	40 (1)
Жами	–	50 (1)	50 (3)	100 (4)

Изоҳ: қавс ичида тажриба давомида нобуд бўлган ҳайвонлар сони келтирилган.

Ингаляцион ис гази интоксикацияси модели. Экспериментал интоксикация герметик ингаляцион камера шароитида амалга оширилди: махсус камера тайёрланиб, унинг ичига назорат қилинадиган концентрацияда ис гази юборилди. Камера ичидаги ис гази концентрацияси ва кислород миқдори газ анализатори ёрдамида узлуксиз мониторинг қилиб борилди, бу экспозиция шароитларининг барча ҳайвонлар учун бир хил бўлишини таъминлади.

Тажриба давомида каламушлар 0,4–0,5% (4000–5000 ppm) концентрациядаги ис гази таъсирига учратилди. Экспозиция давомийлиги барча ҳайвонлар учун бир хил белгиланиб, оғир интоксикациянинг клиник белгилари – ҳаракат фаоллигининг кескин пасайиши, мувозанатнинг бузилиши, нафас олиш частотасининг ўзгариши ва ён томонга йиқилиш – пайдо бўлгунга қадар давом эттирилди. Белгиланган вақт тугагач, ҳайвонлар дарҳол хона ҳавосига чиқарилиб, реоксигенация даври бошланди. Назорат гуруҳидаги ҳайвонлар худди шу давомийликда камерага жойлаштирилиб, фақат хона ҳавосидан нафас олдирилди (2-жадвал).

Модел адекватлигини баҳолашда адабиётда тавсифланган бошқа экспериментал протоколлар билан қиёслаш ўтказилди (3-жадвал). Мазкур тадқиқотда қўлланилган концентрация диапазони ўрта-юқори токсик даражага тўғри келади ва ўткир интоксикацияни нисбатан қисқа экспозиция давомида ҳосил қилиш имконини беради; бу эса узоқ муддатли экспозиция билан боғлиқ қўшимча стресс омилларини камайтиради.

Интоксикация адекватлигини назорат қилиш. Интоксикация жараёнида ва ундан кейин ҳайвонларнинг умумий ҳолати, нафас олиш частотаси, рефлектор реакциялари ва ҳаракат фаоллиги баҳолаб борилди. Тажриба гуруҳларида ҳансираш, сианоз, сустлик, мувозанатнинг бузилиши ва нафас етишмовчилиги белгилари қайд этилди; ушбу клиник белгилар моделнинг адекватлигини тасдиқловчи бирламчи мезон сифатида қабул қилинди.

Интоксикация даражасини объектив баҳолаш мақсадида тажриба гуруҳларида вена қонидан намуналар олиниб, лаборатор-биокимёвий текширувлар ўтказилди; улар орқали карбоксигемоглобин миқдори, гипоксия кўрсаткичлари ҳамда яллиғланиш билан боғлиқ ўзгаришлар аниқланди. Карбоксигемоглобин даражасини аниқлаш ис гази билан заҳарланишни тасдиқлашнинг энг ишончли усули ҳисобланади: адабиётда кўрсатилганидек, HbCO даражаси CO концентрациясига бевосита боғлиқ ҳолда ортади ва юқори қийматларда леталлик кескин ошади [10, 14].

Жадвал 2. Экспериментал ис гази интоксикацияси моделининг асосий параметрлари

Параметр	Қиймати / тавсифи
Ҳайвон тури	Оқ зотсиз каламуш, иккала жинс
Ёш гуруҳлари	3 ойлик (240–270 г); 9 ойлик (350–380 г)
Адаптация даври	7–10 кун
Токсикант етказиб бериш усули	Герметик ингаляцион камера, статик экспозиция
CO концентрацияси	0,4–0,5% (4000–5000 ppm)
Экспозиция давомийлиги	Стандартлаштирилган; оғир интоксикация клиник белгилари пайдо бўлгунга қадар
Камера мониторинги	CO ва O_2 миқдорининг узлуксиз назорати
Реоксигенация	Хона ҳавоси, экспозиция тугагандан сўнг дарҳол
Кузатув нуқталари	6 соат (яқин муддат); 7 сутка (узоқ муддат)
Назорат гуруҳи	Худди шу давомийликда камерада хона ҳавоси
Баҳолаш мезонлари	Умумий ҳолат, нафас частотаси, рефлектор реакциялар, ҳаракат фаоллиги, тана вазни
Лаборатор назорат	Вена қонида карбоксигемоглобин, гипоксия ва яллиғланиш кўрсаткичлари

Жадвал 3. Адабиётда тавсифланган экспериментал ис гази интоксикацияси моделларининг қиёсий тавсифи

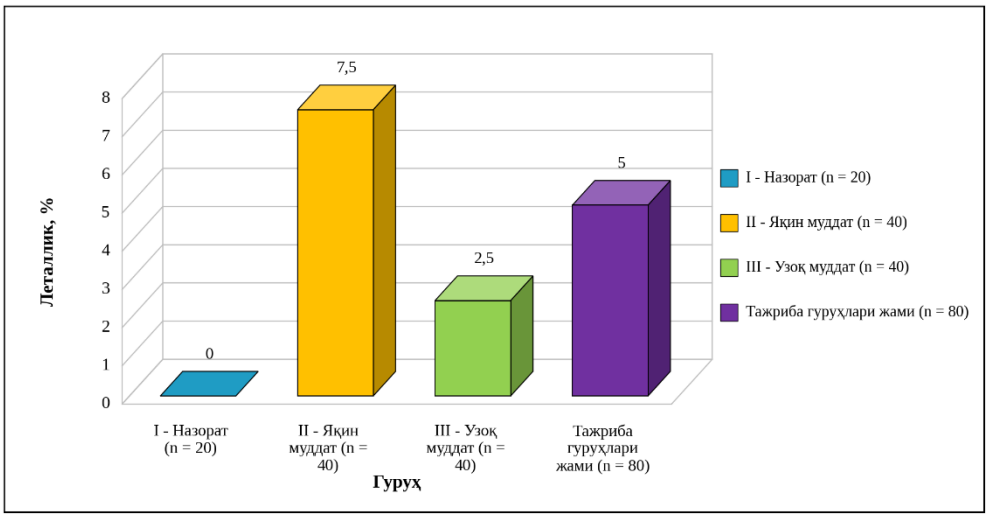
Модел	Ҳайвон	CO, ppm	Экспозиция	Модел хусусияти	Манба
Трахеостомик етказиб бериш	Каламуш, ~300 г	400 / 1000 / 2000	120 дақ. + 30 дақ. реоксигенация	Дозага боғлиқликни аниқ назорат қилиш; 2000 ppm да 100% леталлик	[15]
Газ камераси (узоқ муддатли кузатув)	Каламуш	1500	180 дақ.	Заҳарланишдан 6 ҳафта кейинги эмфизематоз ўзгаришлар	[11]
Plexiglas камера, оқимли	Sprague-Dawley	1000 → 3000	40 + 20 дақ.	Ҳушни йўқотгунга қадар экспозиция	[15, 21]
Динамик юқори концентрацияли модел	Sprague-Dawley, 220–380 г	1000–24 000	5 дақ.	HbCO 60–69%; 24 000 ppm да леталлик 33,3%	[15]
Мазкур тадқиқот	Оқ зотсиз каламуш	4000–5000	Стандартлаштирилган	Икки ёш гуруҳи; яқин ва узоқ муддатли кузатув	–

Мазкур тадқиқотда тажриба гуруҳларидаги умумий леталлик 5,0% ни (80 та ҳайвондан 4 таси) ташкил этди: яқин муддатли кузатув гуруҳида бу кўрсаткич 7,5%, узоқ муддатли гуруҳда 2,5% га тенг бўлди. Нобуд бўлган ҳайвонларнинг 3 таси 9 ойлик, 1 таси 3 ойлик гуруҳга тўғри келди, бу ёш омилининг интоксикацияга чидамлиликка таъсирини билвосита кўрсатади (1-расм). Леталликнинг бундай даражаси моделнинг ўткир, аммо якуний ўлимга олиб келмайдиган интоксикацияни ҳосил қилиш талабига жавоб беришини тасдиқлайди.

Материални олиш ва гистологик ишлов бериш. Тажриба якунлангач, ҳайвонлар умумий наркоз остида биоэтик талаблар асосида тажрибадан чиқарилди, сўнгра трахея, бронхлар ва ўпка тўқималари эҳтиёткорлик билан ажратиб олинди. Олинган материаллар 10% ли нейтрал формалин эритмасида хона ҳароратида (22–24 °C) фиксация қилинди.

Сувсизлантириш жараёнида концентрацияси босқичма-босқич ошириладиган этил спиртлари (40° дан 96° гача) ишлатилди; турли концентрациядаги эритмаларни тайёрлашда асосий компонент сифатида 96° ли спирт қўлланилди (4-жадвал). Абсолют спирт олишда мис купороси усулидан фойдаланилди [6]. Материаллар 250 мл ҳажмли, олдиндан ювилиб қуритилган шиша идишларда сувсизлантирилиб, спирт сатҳи ҳар бир идишда биоматериалдан камида 5 см юқори бўлиши таъминланди.

Тўқима бўлаклари кетма-кет равишда турли концентрациядаги спиртли эритмаларга ўтказилди; навбатдаги эритмага ўтказишдан олдин бўлаклар фильтр қоғози ёрдамида дренаж қилинди. Сувсизлантириш босқичи тугагач, материал гомогенлаштирилган парафинга қуйилди; бўлакларнинг сифатли кесилишини таъминлаш мақсадида 100 г парафинга 5 г мум қўшилди. Проводканинг тўлиқ сикли 110,5 соатни ташкил этди (5-жадвал, 2-расм).



1-расм. Тажриба гуруҳларида ҳайвонлар нобуд бўлиши (леталлик) кўрсаткичи, %

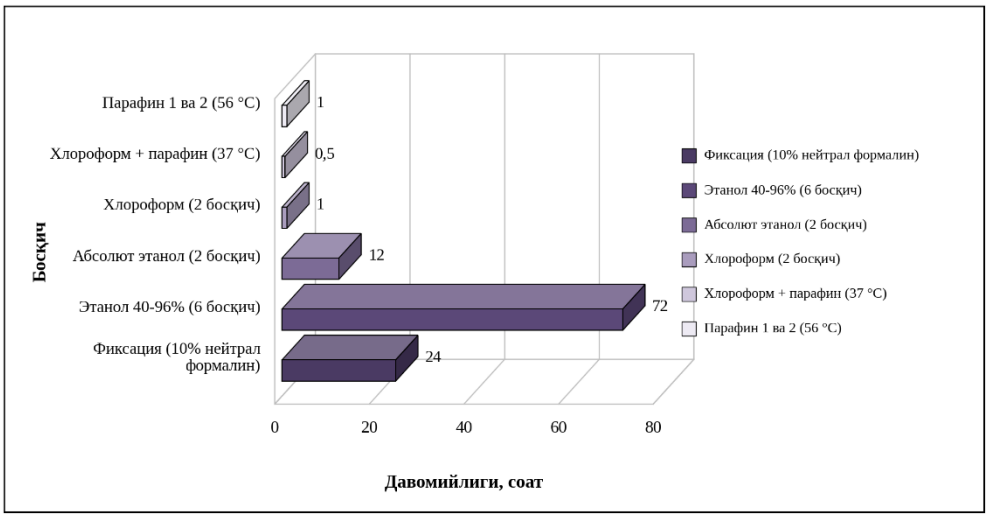
Жадвал 4. Керакли фоиздаги спирт эритмаларини тайёрлаш схемаси

Талаб этиладиган спирт	96° спирт, мл	Дистилланган сув, мл
40°	42	58
45°	47	53
50°	52	48
60°	63	37
70°	73	27
80°	83	17
90°	94	6

Изоҳ: ҳажмлар 100 мл тайёр эритма учун келтирилган.

Жадвал 5. Гистологик проводка (спирт батареясидан ўтказиш) босқичлари

№	Босқич	Давомийлиги	№	Босқич	Давомийлиги
1	40% этанол	12 соат	8	100% (2) этанол	6 соат
2	50% этанол	12 соат	9	Хлороформ 1	30 дақиқа
3	60% этанол	12 соат	10	Хлороформ 2	30 дақиқа
4	70% этанол	12 соат	11	Хлороформ + парафин (37 °C)	30 дақиқа
5	80% этанол	12 соат	12	Парафин 1 (56 °C)	30 дақиқа
6	96% этанол	12 соат	13	Парафин 2 (56 °C)	30 дақиқа
7	100% (1) этанол	6 соат	–	**Жами**	**110,5 соат**



2-расм. Гистологик тайёрлаш босқичларининг давомийлиги (соат)

Парафин блоклардан микротом ёрдамида 5–7 мкм қалинликдаги кесмалар тайёрланиб, буюм ойналарига жойлаштирилди; иммуногистокимёвий текширув учун мўлжалланган кесмалар 4–6 мкм қалинликда тайёрланди. Морфометрик текширувлар ва ўлчовлар NLCD-307B микроскопида амалга оширилди.

Гистологик ва гистокимёвий бўяш усуллари. Гематоксилин-эозин билан бўяш ўпка тўқимасининг умумий архитектоникасини, алвеоляр тузилмаларни, бронхиал эпителий ҳолатини, қон томирларидаги ўзгаришларни ҳамда яллиғланиш инфильтрациясини баҳолаш учун қўлланилди. Бўяш натижасида коллаген оқ-пушти, ацидофил цитоплазма қизил, мушак тўқимаси тўқ пушти, базофил цитоплазма бинафша, эритроцитлар олча-қизил, ядролар эса кўк рангда ифодаланди [27, 41].

Алциан кўки билан бўяш кислотали мукополисахаридлар ва гликозаминогликанларни аниқлаш мақсадида бажарилди. Ушбу усул бронхиал шиллиқ қаватнинг секретор фаоллигини, ҳужайралараро матрикс ҳолатини ҳамда шиш ва репаратив жараёнлар билан боғлиқ ўзгаришларни баҳолаш имконини беради. Бўяш босқичлари қуйидаги кетма-кетликда амалга оширилди: фиксация → гидратация (спирт серияларидан ўтказиш) → алциан кўки эритмасида бўяш (pH 2,5) → дистилланган сувда ювиш → контрбўяш. Натижада гликоген ва нейтрал мукополисахаридлар қизил, кислотали мукополисахаридлар ва ядролар эса кўк рангда ифодаланди [27].

Иммуногистокимёвий текшириш усули. Иммуногистокимёвий текширув CD68 ва Caspase-3 маркерлари бўйича бажарилди: CD68 моноцит-макрофаг қаторига мансуб ҳужайралардаги лизосомал мембрана оқсилларини аниқлаш ва макрофагал фаолликни баҳолаш учун, Caspase-3 эса апоптознинг ижрочи босқичидаги фаолликни аниқлаш учун қўлланилди [20, 35, 48]. Протокол қуйидаги босқичларни ўз ичига олди: кесмаларни парафинсизлантириш ва регидратация; эндоген пероксидаза фаоллигини 3% ли водород пероксид эритмаси билан блоклаш; трис-NaCl буфер эритмасида ювиш; тегишли бирламчи антитана билан инкубация; иккиламчи антитана ва фермент-конъюгат тизимини қўллаш; DAB хромогени ёрдамида визуализация; гематоксилин билан контрбўяш ва монтаж (6-жадвал).

Иммуногистокимёвий экспрессияни миқдорий баҳолашда QuPath 0.7.0 рақамли патология дастуридан фойдаланилди. Ушбу очиқ кодли платформа ҳужайраларни автоматик сегментация қилиш, DAB сигналининг интенсивлигини ўлчаш ҳамда мусбат ва манфий ҳужайраларни объектив таснифлаш имконини беради [12, 25, 32]. Ҳар бир препаратда умумий аниқланган ҳужайралар сони, мусбат ва манфий ҳужайралар миқдори ҳамда мусбат ҳужайраларнинг улуши ҳисоблаб чиқилди. Таҳлил майдони барча препаратлар учун бир хил (168 310 пкс²) қилиб белгиланди, бу натижаларнинг таққосланувчанлигини таъминлади.

Морфометрик таҳлил. Морфометрик ўлчовлар ATS/ERS нинг ўпка тузилишини миқдорий баҳолаш бўйича расмий тавсияларига таянган ҳолда бажарилди [24]. Ҳар бир ҳайвоннинг ўпка тўқимасидан тайёрланган препаратларда тасодифий танланган кўрув майдонларида ўлчовлар ўтказилди; олинган қийматлар асосида минимал, максимал ва ўртача кўрсаткичлар ҳисобланди (7-жадвал). Ўлчовларнинг объективлигини таъминлаш мақсадида барча препаратлар кодланган ҳолда, текширувчи гуруҳ мансублигини билмаган шароитда (кўр усул) баҳоланди; ҳар бир кўрсаткич бўйича камида 5 та кўрув майдонида ўлчов ўтказилди.

Статистик таҳлил. Олинган маълумотлар вариацион статистика усуллари ёрдамида қайта ишланди; дастлаб маълумотларнинг тақсимланиш характери баҳоланди. Нормал тақсимланган миқдорий кўрсаткичларни таққослашда Стьюдент t-мезони, тақсимот нормал бўлмаган ҳолларда Манн–Уитни U-мезони қўлланилди [36]. Корреляцион ва регрессион таҳлилнинг ишончлилигини текширишда Фишер z-мезони ва F-мезони қўлланилди. Аҳамиятлиликнинг тўртта даражаси қабул қилинди: юқори – $p<0,001$; ўрта – $p<0,010$; паст (маргинал) – $p<0,050$; ишончсиз – $p>0,050$. Фарқлар $p<0,05$ даражасида статистик аҳамиятли деб ҳисобланди (8-жадвал).

Жадвал 6. CD68 ва Caspase-3 маркерлари бўйича иммуногистокимёвий текширув протоколи

Босқич	Шароити	Изоҳи
Кесма қалинлиги	4–6 мкм	Парафин блоклардан микротомда тайёрланди
Парафинсизлантириш ва регидратация	Ксилол → камаювчи спирт серияси → дистилланган сув	Антитананинг тўқимага киришини таъминлайди
Эндоген пероксидазани блоклаш	3% H_2O_2	Носпецифик фон реакциясини камайтиради
Ювиш	Tris-NaCl буфер эритмаси	Ҳар бир босқичдан кейин такрорланади
Бирламчи антитана	CD68 га қарши / Caspase-3 га қарши антитана	Ишлаб чиқарувчи тавсиясига мувофиқ суюлтириш
Иккиламчи тизим	Иккиламчи антитана + фермент-конъюгат	Сигнални кучайтириш
Визуализация	DAB хромогени	Мусбат реакция жигарранг рангда намоён бўлади
Контрбўяш	Гематоксилин	Ядроларни фарқлаш учун
Баҳолаш шароити	200–400× катталаштириш, 5 та кўрув майдони	Ҳар бир препарат учун
Миқдорий таҳлил	QuPath 0.7.0	Мусбат ҳужайраларнинг умумий ҳужайраларга нисбати, %
Экспрессия даражаси	<10% – паст; 10–30% – ўртача; >30% – юқори	Иккала маркер учун бир хил мезон

Жадвал 7. Баҳоланган морфометрик кўрсаткичлар ва уларни ўлчаш методикаси

Кўрсаткич	Ўлчов бирлиги	Ўлчаш методикаси	Диагностик мазмуни
Алвеоляр девор қалинлиги	мкм	Алвеолалараро тўсиқнинг энг тор қисмида перпендикуляр ўлчаш	Интерстициал шиш ва инфильтрация
Алвеоляр бўшлиқ майдони	мкм^2	Алвеола контурини автоматик ажратиш ва майдонни ҳисоблаш	Ҳаво алмашинув юзаси ҳолати
Бронхиола диаметри	мкм	Ички контурнинг икки перпендикуляр ўлчами ўртачаси	Обструктив ва компенсатор ўзгаришлар
Бронхиола девори қалинлиги	мкм	Эпителий асосидан ташқи контургача бўлган масофа	Шиллиқ қават шиши, ремоделланиш
Артериола диаметри	мкм	Томир бўшлиғининг ички ўлчами	Гемодинамик ҳолат
Артериола девори қалинлиги	мкм	Интима асосидан адвентиция чегарасигача	Периваскуляр шиш, томир ремоделланиши

Жадвал 8. Қўлланилган статистик усуллар ва уларни танлаш шартлари

Усул	Қўлланиш шарти	Вазифаси
Стьюдент t-мезони	Нормал тақсимот, иккита мустақил гуруҳ	Ўртача қийматларни таққослаш
Манн–Уитни U-мезони	Нормал тақсимот белгилари йўқ, кичик танлама	Мустақил гуруҳларни нопараметрик таққослаш
Фишер z-мезони	Корреляцион таҳлил	Корреляция коэффициентининг ишончлилигини текшириш
F-мезони	Регрессион модел	Модел адекватлигини баҳолаш
Вариацион статистика	Барча миқдорий кўрсаткичлар	M±m, min–max, ўртача квадратик четланиш

Муҳокама. Таклиф этилаётган модел бир қатор методологик афзалликларга эга. Биринчидан, герметик ингаляцион камерада статик экспозиция токсикантнинг барча ҳайвонларга бир хил шароитда таъсир қилишини таъминлайди, камера ичидаги CO ва O_2 миқдорининг узлуксиз мониторинги эса экспозиция дозасини назорат қилиш имконини беради. Бу жиҳат трахеостомик етказиб бериш усулига нисбатан камроқ инвазив бўлиб, жарроҳлик стресси билан боғлиқ қўшимча ўзгарувчини истисно қилади [14].

Иккинчидан, моделга ёш омилининг киритилиши унинг муҳим устунлиги ҳисобланади. Адабиёт таҳлили кўрсатишича, ис гази билан заҳарланишни ўрганган экспериментал ишларнинг аксарияти бир ёш гуруҳидаги ҳайвонларда ўтказилган [14, 28, 42], ҳолбуки эпидемиологик маълумотлар ўлим кўрсаткичининг ёш билан кескин ортишини кўрсатади [22]. Мазкур тадқиқотда 3 ва 9 ойлик ҳайвонларнинг параллел ўрганилиши ёшга боғлиқ морфологик жавобни тўғридан-тўғри таққослаш имконини беради. Нобуд бўлган ҳайвонларнинг 75% и 9 ойлик гуруҳга тўғри келиши ушбу фарқнинг экспозиция босқичидаёқ намоён бўлишини кўрсатади.

Учинчидан, иккита кузатув нуқтасининг (6 соат ва 7 сутка) танлови патогенетик жиҳатдан асосланган. P.R. Angelova ва ҳаммуаллифлари кўрсатганидек, реактив кислород турларининг ҳосил бўлиши уч босқичда кечади ва унинг охирги тўлқини айнан реоксигенация даврига тўғри келади [7, 9]. Шу сабабли 6 соатлик нуқта ўткир васкуляр-экссудатив жавобни, 7 суткалик нуқта эса репаратив ва ремоделловчи жараёнларни баҳолаш учун оптимал ҳисобланади [44].

Тўртинчидан, баҳолаш усулларининг комплекслиги – гематоксилин-эозин, алциан кўки, иммуногистокимё ва морфометриянинг биргаликда қўлланилиши – патологик жараённи турли даражаларда тавсифлаш имконини беради: гематоксилин-эозин умумий архитектоникани, алциан кўки ҳужайралараро матрикс ва секретор фаолликни, CD68 макрофагал жавобни, Caspase-3 эса апоптотик шикастланишни кўрсатади. Морфометрик ўлчовлар бу сифат маълумотларини миқдорий шаклга ўтказади, QuPath дастуридан фойдаланиш эса иммуногистокимёвий баҳолашнинг субъективлигини сезиларли даражада камайтиради [12, 25, 32, 40].

Моделнинг чекловларини ҳам кўрсатиш лозим. Экспозиция давомийлиги клиник белгиларга қараб белгиланганлиги сабабли, алоҳида ҳайвонларда ҳақиқий таъсир дозаси маълум даражада фарқ қилиши мумкин; буни камайтириш учун HbCO даражасини ҳар бир ҳайвонда ўлчаш мақсадга мувофиқ [10, 16]. Статик камерада CO_2 тўпланиши эҳтимоли мавжуд бўлиб,

оқимли (динамик) тизим бу камчиликни бартараф этади. Бундан ташқари, кузатув муддати 7 сутка билан чекланганлиги узоқ муддатли фибротик қайта қурилишни тўлиқ баҳолаш имконини бермайди: S.J. Lee ва ҳаммуаллифлари эмфизематоз ўзгаришларни 6 ҳафта ўтгач аниқлаганлар [28]. Шу сабабли келгуси тадқиқотларда кузатув муддатини 4–6 ҳафтагача узайтириш тавсия этилади.

Ниҳоят, ARRIVE 2.0 тавсияларига риоя қилиш – ҳайвонлар сонини, гуруҳларга тақсимлаш тартибини, экспозиция параметрларини, летальликни ва статистик усулларни тўлиқ баён этиш – мазкур моделнинг бошқа лабораторияларда такрорланиши учун зарур шарт ҳисобланади [33, 34].

Хулосалар. Ишлаб чиқилган ингаляцион ис гази интоксикацияси модели (герметик камера, 0,4–0,5% ёки 4000–5000 ppm концентрация, CO ва O_2 миқдорининг узлуксиз мониторинги) ўткир заҳарланишни такрорланувчан тарзда ҳосил қилиш имконини беради.

Тажриба гуруҳларидаги умумий леталлик 5,0% ни ташкил этди (яқин муддатли гуруҳда 7,5%, узоқ муддатли гуруҳда 2,5%), бу моделнинг ўткир, аммо якуний ўлимга олиб келмайдиган интоксикацияни ҳосил қилиш талабига жавоб беришини кўрсатади.

Нобуд бўлган 4 та ҳайвоннинг 3 таси 9 ойлик гуруҳга тўғри келиши ис гази таъсирига чидамлиликнинг ёшга боғлиқлиги ҳақида дастлабки маълумот беради ва каттароқ танламада текширишни талаб қилади.

Иккита кузатув нуқтаси (6 соат ва 7 сутка) ўткир васкуляр-экссудатив жавобни ҳамда репаратив-ремоделловчи жараёнларни алоҳида баҳолаш имконини беради.

Гематоксилин-эозин, алциан кўки, CD68 ва Caspase-3 иммуногистокимёвий маркерлари ҳамда морфометрик ўлчовларни биргаликда қўллаш ўпка тўқимасидаги патологик жараённи структуравий, гистокимёвий ва ҳужайравий даражаларда комплекс тавсифлашни таъминлайди; QuPath 0.7.0 дастурида стандартлаштирилган майдонда (168 310 пкс²) ўтказилган миқдорий таҳлил эса баҳолашнинг объективлиги ва такрорланувчанлигини оширади.

Моделни такомиллаштириш йўналишлари сифатида ҳар бир ҳайвонда HbCO даражасини ўлчаш, оқимли (динамик) камерага ўтиш ва кузатув муддатини 4–6 ҳафтагача узайтириш тавсия этилади.

Адабиётлар:

1. Еникеев Д.А. и др. Структурно-функциональные изменения головного мозга, лёгких и сердца крыс при отравлении угарным газом на фоне алкогольной интоксикации // Современные проблемы науки и образования. 2021. № 5. С. 95.
2. Индиаминов С.И., Ким А.А. Проявления пато- и танатогенеза в структурах головного мозга при отравлениях угарным газом // Медицинские новости. 2020. № 8 (311). С. 67–69.
3. Ким А.А., Индиаминов С.И., Асатулаев А.Ф. Патоморфология отравлений угарным газом // Журнал биомедицины и практики. 2020. Т. 3, № 5. С. 93–98.
4. Мамедова Г.Т., Хасанова Д.А. Морфогистохимическая оценка фиброзных изменений миокарда при отравлении угарным газом // Журнал гуманитарных и естественных наук. 2026. № 34 (2). С. 177–181.
5. Рахмонов Х.Ю. и др. Судебно-медицинские аспекты отравления угарным газом в региональных филиалах Республиканского научно-практического центра судебно-медицинской экспертизы Узбекистана // Международный журнал теории новейших научных исследований. 2024. Т. 2, № 10. С. 97–100.
6. Янин В.Л. и др. Методы гистологической техники: получение абсолютного спирта с использованием медного купороса. 2015.
7. Abramov A.Y., Myers I., Angelova P.R. Carbon monoxide: a pleiotropic redox regulator of life and death // Antioxidants (Basel). 2024. Vol. 13, № 9. Art. 1121. DOI: 10.3390/antiox13091121.
8. Ahn G.J., Lee S., Heo Y.-W., Cha Y.S. Mortality risks and causes in previous carbon monoxide poisoning: a nationwide population-based cohort study // Critical Care Medicine. 2024. Vol. 52, № 12. P. 1866–1876.
9. Angelova P.R., Myers I., Abramov A.Y. Carbon monoxide neurotoxicity is triggered by oxidative stress induced by ROS production from three distinct cellular sources // Redox Biology. 2023. Vol. 60. Art. 102598.
10. Aykut A., et al. Serum lactate and carboxyhemoglobin as predictors of hyperbaric oxygen therapy in carbon monoxide poisoning // BMC Emergency Medicine. 2025. Vol. 25, № 1. Art. 252.
11. Azimova S.B., Yo'ldoshev B.X., Nurmatov B.Q. Is gazi bilan zaharlanishda yurak-qon tomir tizimi zararlanishining patogenetik jihatlari va ularni korreksiyalash // Zamonaviy tibbiyot jurnali. 2026. Vol. 12, № 1. P. 524–528.
12. Bankhead P., Loughrey M.B., Fernández J.A., et al. QuPath: open source software for digital pathology image analysis // Scientific Reports. 2017. Vol. 7. Art. 16878.
13. Bansal S., et al. Carbon monoxide as a potential therapeutic agent: a molecular analysis of its safety profiles // Journal of Medicinal Chemistry. 2024. Vol. 67, № 12. P. 9789–9804.
14. Bungatavula D., Greenwood J.C., Shofer F.S., et al. Blood cells as a cellular biomarker for mitochondrial

function in an experimental model of acute carbon monoxide poisoning with treatment // Journal of Medical Toxicology. 2025. Vol. 21, № 3. P. 327–335. DOI: 10.1007/s13181-025-01077-6.
15.Byrne J.D., et al. Delivery of therapeutic carbon monoxide by gas-entrapping materials // Science Translational Medicine. 2022. Vol. 14, № 651. Art. eabl4135.
16.Cha Y.S., Chang J.S., Kim H., Park K.-S. Application of mitochondrial and oxidative stress biomarkers in the evaluation of neurocognitive prognosis following acute carbon monoxide poisoning // Metabolites. 2022. Vol. 12, № 3. Art. 201.
17.Choi S., Nah S., Han S. Correlation between time to hyperbaric oxygen therapy and delayed neurological sequelae in acute carbon monoxide poisoning patients // Diagnostics. 2024. Vol. 14, № 2. Art. 186.
18.Dent M.R., et al. Carbon monoxide poisoning: from microbes to therapeutics // Annual Review of Medicine. 2024. Vol. 75. P. 337–351.
19.Dong S., et al. Carbon monoxide attenuates lipopolysaccharide-induced lung injury by mitofusin proteins via p38 MAPK pathway // Journal of Surgical Research. 2018. Vol. 228. P. 201–210.
20.Fodor R.-S., Georgescu A.-M., Grigorescu B.-L., et al. Caspase-3 expression and plasma level of Fas ligand as apoptosis biomarkers in inflammatory endotoxemic lung injury // Romanian Journal of Morphology and Embryology. 2016. Vol. 57, № 3. P. 701–707.
21.Fujita M., et al. Evaluating the efficacy of hyperbaric oxygen therapy for acute carbon monoxide poisoning: a systematic review and meta-analysis // Acute Medicine & Surgery. 2026. Vol. 13, № 1. Art. e114.
22.GBD 2021 Carbon Monoxide Poisoning Collaborators. Global, regional, and national mortality due to unintentional carbon monoxide poisoning, 2000–2021 // The Lancet Public Health. 2023. Vol. 8, № 11. P. e839–e849.
23.Heo Y.-W., et al. Internal malignancy risk after carbon monoxide poisoning: a nationwide population-based cohort study // Journal of Clinical Medicine. 2025. Vol. 14, № 3. Art. 937.
24.Hsia C.C.W., Hyde D.M., Ochs M., Weibel E.R. An official research policy statement of the ATS/ERS: standards for quantitative assessment of lung structure // American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. 2010. Vol. 181, № 4. P. 394–418.
25.Humphries M.P., Maxwell P., Salto-Tellez M. QuPath: the global impact of an open source digital pathology system // Computational and Structural Biotechnology Journal. 2021. Vol. 19. P. 852–859.
26.Jia Y., et al. Hyperbaric oxygen therapy for acute carbon monoxide poisoning patients with coma onset // European Journal of Medical Research. 2025. Vol. 30, № 1. Art. 125.
27.Kiernan J.A. Histological and histochemical methods: theory and practice. 5th ed. Scion Publishing, 2015. 571 p.
28.Lee S.J., Kim T., Cha Y.S., et al. Alveolar damage and development of emphysema in rats with carbon monoxide poisoning // Molecular & Cellular Toxicology. 2024. Vol. 20, № 4. P. 959–968.
29.Lee S.J., Lee S., Kim Y.H., Cha Y.S. Risk of lung diseases in patients with previous carbon monoxide poisoning: a nationwide population-based cohort study // Clinical Toxicology. 2024. Vol. 62, № 7. P. 425–431.
30.Li W., et al. Carbon monoxide attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in neonatal rats via downregulation of Cx43 to reduce necroptosis // Medical Science Monitor. 2019. Vol. 25. P. 6255–6263.
31.Ozodbek B. Improving an artificial intelligence-based early detection and warning system for carbon monoxide leaks in residential households // Journal of Science and Innovative Research Studies. 2026. Vol. 1, № 7. P. 33–38.
32.Patel S., Fridovich-Keil S., Rasmussen S.A., Fridovich-Keil J.L. DAB-quant: an open-source digital system for quantifying immunohistochemical staining with 3,3′-diaminobenzidine (DAB) // PLOS ONE. 2022. Vol. 17, № 7. Art. e0271593. DOI: 10.1371/journal.pone.0271593.
33.Percie du Sert N., Ahluwalia A., Alam S., et al. Reporting animal research: explanation and elaboration for the ARRIVE guidelines 2.0 // PLOS Biology. 2020. Vol. 18, № 7. Art. e3000411.
34.Percie du Sert N., Hurst V., Ahluwalia A., et al. The ARRIVE guidelines 2.0: updated guidelines for reporting animal research // PLOS Biology. 2020. Vol. 18, № 7. Art. e3000410.
35.Ramos-Vara J.A. Principles and methods of immunohistochemistry // Methods in Molecular Biology. 2017. Vol. 1641. P. 115–128.
36.Ranganathan P., Pramesh C.S., Aggarwal R. Common pitfalls in statistical analysis: parametric versus non-parametric tests // Perspectives in Clinical Research. 2019. Vol. 10, № 1. P. 40–43.
37.Reumuth G., et al. Carbon monoxide intoxication: what we know // Burns. 2019. Vol. 45, № 3. P. 526–530.
38.Ryter S.W., Ma K.C., Choi A.M.K. Carbon monoxide in lung cell physiology and disease // American Journal of Physiology – Cell Physiology. 2018. Vol. 314, № 2. P. C211–C227.
39.Savioli G., et al. Carbon monoxide poisoning: from occupational health to emergency medicine // Journal of Clinical Medicine. 2024. Vol. 13, № 9. Art. 2466.
40.Schindelin J., et al. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis // Nature Methods. 2012. Vol. 9, № 7. P. 676–682.
41.Suvarna S.K., Layton C., Bancroft J.D. Bancroft's theory and practice of histological techniques. 8th ed. Elsevier, 2019. 573 p.

42.Torkunov P.A., et al. Structural changes of lung tissues in the dynamics of inhalation poisoning // Biology Bulletin Reviews. 2024. Vol. 14, № 6. P. 779–787.
43.Tripathi R., et al. Carbon monoxide as a therapeutic for airway diseases // Current Topics in Medicinal Chemistry. 2021. Vol. 21, № 32. P. 2890–2908.
44.Wang T., et al. Mechanisms and therapeutic targets of carbon monoxide poisoning: a focus on reactive oxygen species // Chemico-Biological Interactions. 2024. Vol. 403. Art. 111223.
45.Xodjiyev F., Hasanova D. Is gazining surunkali ta'siri natijasida oshqozon shilliq qavatida yuzaga kelgan morfologik o'zgarishlarni korreksiyalash va gistomorfologik tahlili // South Aral Region Medical Journal. 2025. Vol. 1, № 4. P. 235–241.
46.Xu W., et al. Carbon monoxide ameliorates lipopolysaccharide-induced acute lung injury via inhibition of alveolar macrophage pyroptosis // Experimental Animals. 2023. Vol. 72, № 1. P. 77–87.
47.Zazzeron L., Franco W., Anderson R. Carbon monoxide poisoning and phototherapy // Nitric Oxide. 2024. Vol. 146. P. 31–36.
48.Ziablitsev D.S., Kozyk M., Strubchevska K., et al. Lung expression of macrophage markers CD68 and CD163, angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), and caspase-3 in COVID-19 // Medicina (Kaunas). 2023. Vol. 59, № 4. Art. 714. DOI: 10.3390/medicina59040714.

СОЗДАНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ОСТРОГО ОТРАВЛЕНИЯ УГАРНЫМ ГАЗОМ И МЕТОДЫ КОМПЛЕКСНОЙ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ ЛЁГОЧНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ

Файзиев Ю.К., Курбанов О.М.

Резюме. *Цель: разработать воспроизводимую экспериментальную модель ингаляционной интоксикации монооксидом углерода и изложить методику комплексной морфологической, гистохимической, иммуногистохимической и морфометрической оценки лёгочной ткани. Материал и методы: исследование проведено в 2024–2026 гг. в научно-исследовательской лаборатории Бухарского государственного медицинского института в соответствии с рекомендациями ARRIVE 2.0. В эксперимент включено 100 беспородных белых крыс обоего пола, распределённых по возрасту (3 мес – 240–270 г; 9 мес – 350–380 г) и сроку наблюдения на три группы: контрольная (n=20), ближайший срок – через 6 часов после отравления (n=40) и отдалённый срок – через 7 суток (n=40). Интоксикацию моделировали в герметичной ингаляционной камере при концентрации CO 0,4–0,5% (4000–5000 ppm) с непрерывным мониторингом содержания кислорода и монооксида углерода. Срезы лёгких окрашивали гематоксилином-эозином и альциановым синим, экспрессию CD68 и Caspase-3 оценивали количественно в программе QuPath 0.7.0, морфометрию выполняли согласно рекомендациям ATS/ERS. Результаты: общая летальность в опытных группах составила 5,0% (4 из 80 животных): 7,5% в ближайшей и 2,5% в отдалённой группе; 3 из 4 погибших животных относились к группе 9 мес. Полный цикл гистологической проводки составил 110,5 часа. Выводы: предложенная модель воспроизводимо вызывает острую, но не приводящую к гибели интоксикацию, а комплексная морфологическая оценка позволяет охарактеризовать патологический процесс в лёгких на структурном, гистохимическом и клеточном уровнях.*

Ключевые слова: *угарный газ, экспериментальная модель, ингаляционная интоксикация, беспородные белые крысы, лёгкие, альциановый синий, иммуногистохимия, CD68, Caspase-3, морфометрия, QuPath, ARRIVE 2.0.*