

Гістоструктурні зміни в імуніокомпетентних органах, печінці та легенях за умов експериментальної ендотоксемії, індукованої ліпополісахаридом

С.І. Павлович, Н.Г. Грушка, О.А. Кондрацька, Н. О.Красуцька, В.М. Антонюк, В.В. Мешко, Р.І. Янчій

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ; e-mail: grunay@i.ua

Захворювання, пов'язані з системними інфекціями, характеризуються тяжкими наслідками та високою смертністю. Серед таких інфекцій важливе місце займає ендотоксемія, яка є патофізіологічним станом, викликаним порушенням реакції хазяїна на бактеріальний ендотоксин, відомий як ліпополісахарид (ЛПС), що є надзвичайно токсичним. За умов дії ЛПС посилюється загибель активованих клітин природного і адаптивного імунітету. Метою нашої роботи було дослідження морфологічних змін в імуніокомпетентних органах, печінці та легенях за умов експериментальної ендотоксемії, індукованої ЛПС. У роботі був використаний гістологічний метод із забарвленням гематоксилін-еозином та подальшим мікроскопічним аналізом. За умов експериментальної ендотоксемії відбувалися гістоструктурні пошкодження органів імунної системи (тимуса, селезінки, лімфовузлів). Порушувався кровообіг з морфологічними змінами всіх шарів судинних стінок, виявлялися некробіотичні та некротичні ушкодження клітин органів. Особливо виражені зміни гістоструктури зазнавала печінка, де значними були порушення мікроциркуляції з розширенням і повнокрів'ям судин різних калібрів та суттєвим ушкодженням ендотеліоцитів. Некротичні зміни гепатоцитів супроводжувалися суттєвим збільшенням зірчастих ретикулоендотеліоцитів та посиленою лімфоцитарною інфільтрацією, що є основою порушення функції печінки та розвитку запальної імунної реакції. Отримані результати щодо морфологічних проявів ендотоксемічного ушкодження можуть слугувати підґрунтям для розробки ефективних терапевтичних підходів при лікуванні ЛПС-індукованих розладів у внутрішніх органах.

Ключові слова: ендотоксемія; тимус; селезінка; лімфовузли; печінка; легені; гістоструктурні зміни.

ВСТУП

Патології, пов'язані з системними інфекціями – нагальна проблема охорони здоров'я, оскільки такі захворювання характеризуються тяжкими наслідками та високою смертністю. Серед таких інфекцій важливе місце займає ендотоксемія, яка є патофізіологічним станом, викликаним порушенням реакції хазяїна на бактеріальний ендотоксин, відомий як ліпополісахарид (ЛПС), що є надзвичайно токсичним [1].

Підраховано, що у кишечнику людини зазвичай міститься 1 г ЛПС [2]. Його невеликі кількості переносяться в крові.

систему, не викликаючи жодної запальної реакції. Однак є інші випадки, коли циркуляція ЛПС сягає високих концентрацій. Це відбувається після руйнування кишкового бар'єра, під час запальних захворювань, алергій та аутоімунних захворювань, причому тяжкість захворювання корелює з рівнями ендотоксемії та вмістом маркерів запалення [3, 4]. Після потрапляння в організм, ЛПС стимулює вроджену імунну відповідь, спонукаючи клітини виробляти та вивільняти низку медіаторів запалення, що призводить до швидкого поширення токсичності та прискорення процесу запалення [5, 6]. ЛПС розпізнається Toll-подібними рецепторами

4 (TLR-4), які наявні в моноцитах й макрофагах. Він взаємодіє з клітинами вродженого імунітету, активуючи їх, призводить до пригнічення адаптивного імунітету. Під час активації ці клітини продукують прозапальні медіатори – цитокіни, інтерлейкіни, оксид азоту, простагландини, а також активовані форми кисню і азоту, що спричиняє розвиток системної запальної відповіді. Це може бути причиною ушкодження клітин та тканин, що, в свою чергу, здатне провокувати розвиток імунозапальних процесів та викликати захворювання різних органів і систем організму людини і тварин [7–9].

Встановлено, що за умов дії ЛПС посилюється загибель активованих клітин природного і адаптивного імунітету як в імунокомпетентних (тимус, селезінка, лімфовузли), так і в органах травної, респіраторної, репродуктивної та видільної систем [10, 11]. Це являє собою серйозну медико-соціальну проблему і потребує достеменного її вивчення. Опубліковані наукові праці щодо гістологічних досліджень внутрішніх органів при дії ЛПС малочисельні і недостатньо проаналізовані [12, 13]. Водночас вивчення морфологічних проявів ендотоксемічного ушкодження у внутрішніх органах при експериментальному дослідженні запальних процесів має науково-прикладне значення та може бути корисним у доклінічних розробках препаратів при лікуванні хворих з ендотоксемією (або для впровадження шляхів корекції проявів таких інфекцій).

Метою нашої роботи було дослідження морфологічних змін в імунокомпетентних органах, печінці та легенях за умов експериментальної ендотоксемії, індукованої ЛПС.

МЕТОДИКА

Дослідження проводили на статевозрілих самицях 24 мишах аутбредної лінії Альбіно (масою 18–22 г), яких утримували за стандартних умов харчового, температурного та світлового режимів віварію Інституту

фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України. При роботі дотримувалися вимог Європейської конвенції щодо гуманного ставлення до лабораторних тварин (Страсбург, 1986), «Правил виконання робіт з використанням експериментальних тварин», затверджених наказом МОЗ України, законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 1759-VI від 15.12.2009) та рекомендацій «Біоетичної експертизи доклінічних та інших наукових досліджень, що виконуються на тваринах» (Протокол № 1/24 від 29.02.2024).

Патологічний процес моделювали за допомогою внутрішньоочеревинного введення ЛПС (*E. coli* 0111:B4, “Sigma”, США). Через 24 год мишей піддавали ефірному наркозу і вилучали матеріал для подальших досліджень. Тварин було поділено на дві групи: дослідну і контрольну. Тварини дослідної групи отримували ін’єкції ЛПС у дозі 3 мг/кг, контрольні – фізіологічний розчин у відповідному об’ємі. Шматочки внутрішніх органів після фіксації 10%-м нейтральним формаліном обробляли за загальноприйнятою гістологічною методикою і заливали у парафін [14]. Зрізи забарвлювали гематоксилін-еозином і піддавали світлооптичному мікроскопічному аналізу.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Встановлено, що введення ЛПС спричиняло імунозапальну реакцію у досліджуваних органах. В усіх імунокомпетентних органах (тимусі, селезінці, лімфовузлах) відмічались виражені розлади кровообігу з порушенням судин як артеріального, так і венозного типів з проявами ендотеліальної дисфункції, локусами набряків і крововиливів. У тимусі збіднювалися периферичні відділи часточок клітинними елементами через зменшення кількості малих лімфоцитів відносно препаратів контрольних тварин. Водночас кількість епітеліоретикулоцитів збільшувалась, укрупнювались тимічні тільця (рис. 1).

У селезінці та лімфовузлах спостерігав-

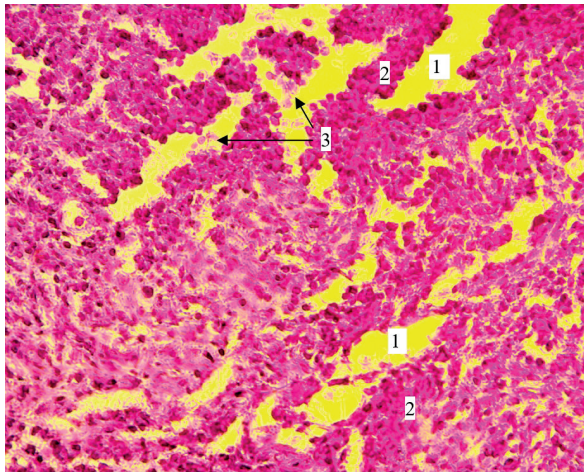


Рис. 1. Мікрофотографія зрізу тканини тимуса. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Об.40, ок.10. 1 – набряк периферичного відділу часточки, 2 – пікноз, 3 – деструкція окремих тимоцитів

лась активація клітин перифолікулярних ділянок (тимуснезалежних зон), приєднання дистрофічних процесів і макрофагально-плазмоцитарних реакцій (у тимусзалежних зонах). Фолікули селезінки досліджених тварин були нерівномірно зменшеними з мало вираженими центрами розмноження, у деяких з них був некроз малих лімфоцитів та поява детриту (рис. 2).

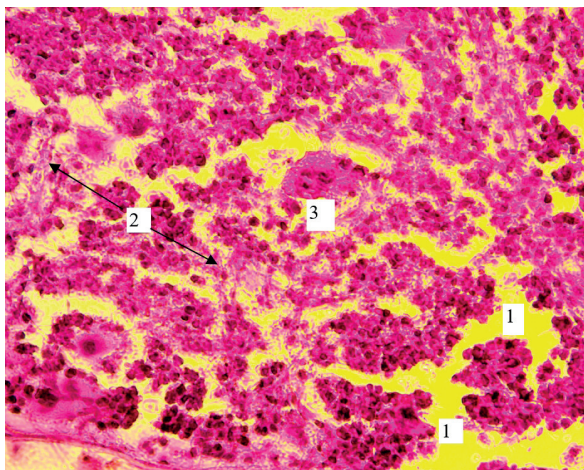


Рис. 2. Мікрофотографія зрізу тканини селезінки. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Об.40, ок.10. 1 – значний набряк та делімафізація, 2 – некроз окремих лімфоцитів, 3 – ділянка детриту у центрі фолікула

У лімфовузлах зменшувались розміри та кількість лімфоїдних фолікулів, у світлих центрах яких реєструвалися клітини у стані каріорексісу та каріопікнозу. Клітинний склад лімфовузлів збіднювався внаслідок зменшення вмісту великих та середніх лімфоцитів. Стінки посткапілярних венул виглядали розшарованими із набряклими ендотеліоцитами (рис. 3).

Бактеріальний ендотоксин викликав пошкодження легень з місцевими і системними ознаками запалення. Гістоструктурні зміни формувалися як у бронхіальному дереві, так і у респіраторному відділі. Зустрічалися локуси ателектазу, значно потовщенні септи, просякнуті еритроцитами та інфільтровані лімфогістіоцитарними елементами. Судинні стінки були потовщенні, розрихлені, з набряклими ендотеліоцитами. Збільшення проникності судин призводило до крововиливів у порожнини альвеол та дрібних бронхів і бронхіол (рис. 4). Наші результати підтверджуються даними досліджень інших авторів, де показано, що після введення ЛПС спостерігається альвеолярний набряк легень, який характеризувався наявністю в альвеолах гомогенних еозинофільних мас [15].

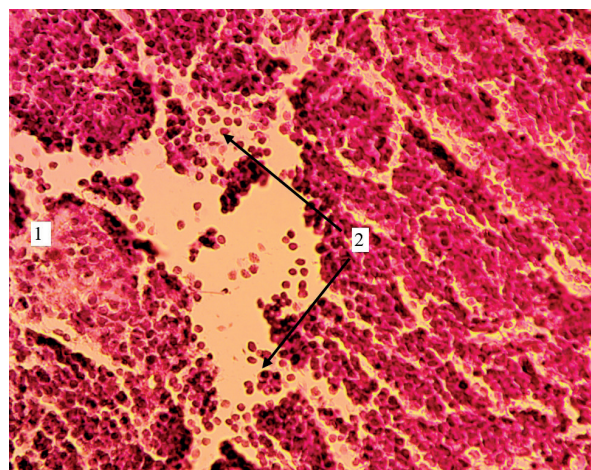


Рис. 3. Мікрофотографія зрізу тканини лімфовузла. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Об.40, ок.10. 1 – ділянка некрозу, 2 – геморагічне просякання тканини

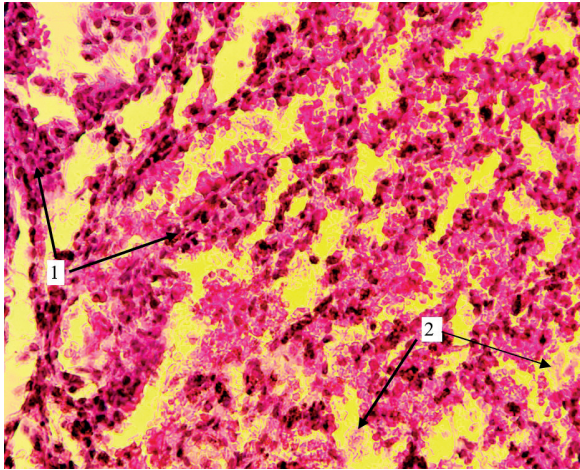
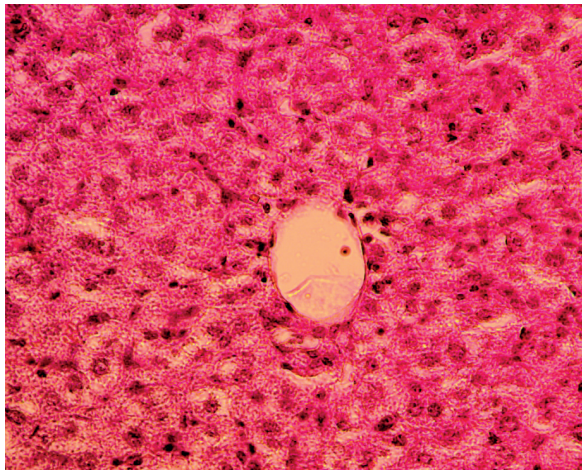


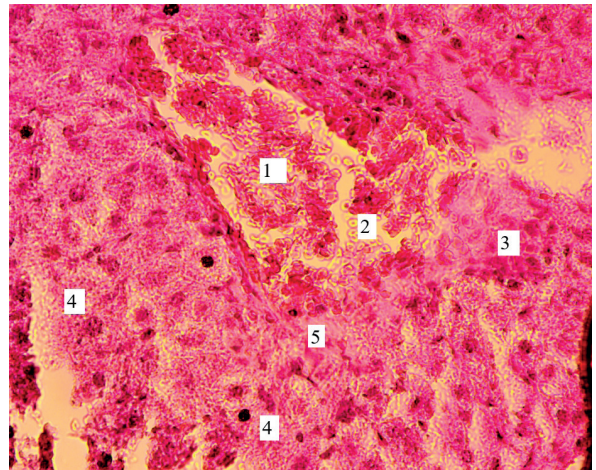
Рис. 4. Мікрофотографія зрізу тканини легень. Забарвлення гематоксилином та еозином. Об.40, ок.10. 1 – лімфогістіоцитарна інфільтрація потовщених септ, 2 – некроз окремих альвеолоцитів

Печінка через своє анатомічне розташування, постійно піддається впливу різноманітних антигенів, включаючи бактерії та/або їх токсичні продукти, такі як ЛПС. Вона не тільки відіграє вирішальну роль у метаболізмі імунних реакцій, боротьбі з бактеріальними та вірусними інфекціями та видаленні токсичних компонентів, але також виконує низку функцій, скерованих на син-

тез, зберігання, розкладання та виведення, а також регулювання балансу внутрішнього середовища організму. Підвищення вмісту ЛПС у печінці стимулює її макрофаги, що призводить до вивільнення факторів запалення, зокрема таких як інтерлейкін-1, інтерлейкін-6 і фактор некрозу пухлини α , що в свою чергу призводить до запалення та пошкодження печінки [16, 17]. У нашому дослідженні найбільшого ушкодження зазнала саме печінка. Виявлялася поява і наростання дистрофічних та проліферативних змін у паренхімі печінки, активація та гіпертрофія зірчастих ретикулоендотеліоцитів. Порушення мікроциркуляції з розширенням і повнокрів'ям судин різних калібрів супроводжувалось ушкодженням судинних стінок з їх розриванням, розволокненням, а також дистрофічними змінами ендотеліоцитів, внаслідок чого реєструвалися значні периваскулярні набряки з білоквмісною рідиною. Місцями спостерігались локуси дифузного геморагічного просякання тканини печінки. Відмічалася міграція лейкоцитів у тканину печінки. Виявлялися локуси дифузної і вогнищевої лімфоцитарної інфільтрації та некробіозу гепатоцитів (рис. 5). Суттєве збільшення дифузної інфільтрації печінки, ймовірно, пов'язане із посиленням



а



б

Рис. 5. Мікрофотографія зрізу зразка печінки: а – контроль (трабекулярна структура без порушень), б – дія ліпополісахариду (1 – розширення і повнокрів'я судини, 2 – периваскулярний набряк, 3 – вогнищева лімфоцитарна інфільтрація тканини, 4 – некробіоз та 5 – некроз окремих гепатоцитів). Забарвлення гематоксилином та еозином. Об.40, ок.10

синтезу хемокінів та молекул клітинної адгезії [17, 18].

ВИСНОВОК

Отже, результати наших досліджень і їх аналіз показали, що за умов експериментальної ендотоксемії, викликані дією ЛПС, відбуваються значні гістоструктурні пошкодження органів імунної системи, які включають як порушення кровообігу з морфологічними змінами всіх шарів судинних стінок, так і некробіотичні та некротичні ушкодження клітин органів. На фоні повнокрів'я і геморагічного просякання тканини легень відмічалися значні локуси загибелі альвеолоцитів. Усе це призводило до порушень легеневого кровообігу і ділянок ателектазу. Особливо виражені зміни гістоструктури зазнавала печінка дослідних тварин, де значними були порушення мікроциркуляції з розширенням і повнокрів'ям судин різних калібрів та суттєвим ушкодженням ендотеліоцитів. Некротичні зміни гепатоцитів супроводжувалися збільшенням числа зірчастих ретикулоендотеліоцитів та посиленою лімфоцитарною інфільтрацією, що є основою порушення функції печінки та розвитку запальної імунної реакції.

Отримані результати щодо морфологічних проявів ендотоксемічного ушкодження є важливими для з'ясування особливостей перебігу імунних реакцій за таких умов, що може слугувати підґрунтям для розробки ефективних терапевтичних підходів при лікуванні ЛПС-індукованих розладів у внутрішніх органах, з метою їх корекції.

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.

S.I. Pavlovich, N.G. Grushka, O.A. Kondratska, N.O. Krasutska, V.M. Antonuyk, V.V. Meshko, R.I. Yanchiy

HISTOSTRUCTURAL CHANGES IN IMMUNOCOMPETENT ORGANS, LIVER AND LUNGS DURING EXPERIMENTAL ENDOTOXEMIA INDUCED BY LIPOPOLYSACCHARIDE

Bogomoletz Institute of Physiology, NAS of Ukraine, Kyiv; e-mail: grunay@i.ua

The purpose of the work was to study morphological changes in immunocompetent organs, liver and lungs during experimental endotoxemia induced by lipopolysaccharide (LPS). The histological method with hematoxylin-eosin staining and subsequent microscopic analysis was used in the work. The histostructural damage to the immune system organs (thymus, spleen, lymph nodes) occurs in experimental endotoxemia caused by LPS. There is a circulatory disorder with morphological changes in all layers of the vascular walls. Necrobiotic and necrotic damage to organ cells was also revealed. The liver of experimental animals underwent especially pronounced changes in histostructure. Significant microcirculation disorders with dilation and congestion of vessels of various sizes and significant damage to endothelial cells were identified. Necrotic changes in hepatocytes were accompanied by a significant increase in stellate reticuloendotheliocytes and increased lymphocytic infiltration, which is the basis for liver dysfunction and the development of an inflammatory immune reaction. In conclusion, the data obtained on the morphological manifestations of endotoxemic damage can serve as the basis for the development of effective therapeutic approaches in the treatment of LPS-induced internal organ damage.

Key words: endotoxemia; thymus; spleen; lymph nodes; liver; lungs; histostructural changes.

REFERENCES

1. Erlanson-Albertsson C, Stenkula KG. The importance of food for endotoxemia and an inflammatory response. *Int J Mol Sci.* 2021;22(17):9562.
2. Moreira AP, Teixeira TF, Ferreira AB, Peluzio Mdo C, Alfenas Rde C. Influence of a high-fat diet on gut microbiota, intestinal permeability and metabolic endotoxaemia. *Br J Nutr.* 2012 Sep;108(5):801-9.
3. Akdis CA. Does the epithelial barrier hypothesis explain the increase in allergy, autoimmunity and other chronic conditions? *Nat Rev Immunol.* 2021 Nov; 21(11): 739-51.

4. Kim J, Lee G, Kang H, Yoo JS, Lee Y, Lee HS, Choi CY. Stauntonia hexaphylla leaf extract (YRA-1909) suppresses inflammation by modulating Akt/NF- κ B signaling in lipopolysaccharide-activated peritoneal macrophages and rodent models of inflammation. Food Nutr Res. 2021 Oct 25;65.
5. Kolomaznik M, Nova Z, Calkovska A. Pulmonary surfactant and bacterial lipopolysaccharide: the interaction and its functional consequences. Physiol Res. 2017 Sep 22;66(Suppl 2):S147-57.
6. Ding Y, Liu P, Chen ZL, Zhang SJ, Wang YQ, Cai X, Luo L, Zhou X, Zhao L. emodin attenuates lipopolysaccharide-induced acute liver injury via inhibiting the TLR4 signaling pathway in vitro and in vivo. Front Pharmacol. 2018 Aug 22;9:962.
7. Shepel E, Grushka N, Makogon N, Sribna V, Pavlovych S, Yanchii R. Changes in DNA integrity and gene expression in ovarian follicular cells of lipopolysaccharide-treated female mice. Pharmacol Rep. 2018 Dec;70(6):1146-9.
8. Gruzdev SK, Podoprigrora IV, Gizinger OA. Immunology of gut microbiome and liver in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD): mechanisms, bacteria, and novel therapeutic targets. Arch Microbiol. 2024 Jan 13;206(2):62.
9. Zhou J, Yu W, Zhang M, Tian X, Li Y, Lü Y. Imbalance of microglial TLR4/TREM2 in LPS-treated APP/PS1 transgenic mice: A potential link between Alzheimer's disease and systemic inflammation. Neurochem Res. 2019 May;44(5):1138-51.
10. Xiano K, Qiu C-W, Chen M, Yang Z, Wang J, Peng K-M, Song H. Distribution and expression of visfatin-positive cells in the spleen of lipopolysaccharide-stimulated piglets. Int J Morphol. 2014;32(4):1457-63.
11. Zhong Y, Zhang X, Hu X, Li Y. Effects of repeated lipopolysaccharide treatment on growth performance, immune organ index, and blood parameters of sprague-dawley rats. J Vet Res. 2018 Dec 10;62(3):341-6.
12. Yoo da K, Lee SH. Effect of Lipopolysaccharide (LPS) Exposure on the reproductive organs of immature female rats. Dev Reprod. 2016 Jun;20(2):113-21.
13. Hahmeyer MLDS, da Silva-Santos JE. Rho-proteins and downstream pathways as potential targets in epsis and septic shock: what have we learned from basic research. Cells. 2021 Jul 21;10(8):1844.
14. I.M. Vareniuk, M.E. Dzerzhynskiyi. Methods of cyto-histological diagnosis: a study guide. Kyiv. Interservice. 2019.
15. Kosyreva AM, Dzhaliilova DS, Makarova OV, Tsvetkov IS, Zolotova NA, Diatroytova MA, Ponomarenko EA, Mkhitarov VA, Khochanskiy DN, Mikhailova LP. Sex differences of inflammatory and immune response in pups of Wistar rats with SIRS. Sci Rep. 2020 Sep 28;10(1):15884.
16. Li Q, Tan Y, Chen S, Xiao X, Zhang M, Wu Q, Dong M. Irisin alleviates LPS-induced liver injury and inflammation through inhibition of NLRP3 inflammasome and NF- κ B signaling. J Recept Sign Transduct Res. 2021 Jun;41(3):294-303.
17. Li B, Hong L, Luo Y, Zhang B, Yu Z, Li W, Cao N, Huang Y, Xu D, Li Y, Tian Y. LPS-induced liver injury of magang geese through Toll-like receptor and MAPK signaling pathway. Animals (Basel). 2022 Dec 28;13(1):127.
18. Fadiencko GD, Gridnyev OE, Kushnir IE, Chernova VM, Solomentseva TA, Nikiforova YV, Kurinna OG. Influence of endotoxemia on development of non-alcoholic fatty liver disease. Modern Gastroenterol. 2021; 5-6:5-11.

*Матеріал надійшов
до редакції 09.04.2024*