

ВПЛИВ БАКТЕРІЙНИХ ЕНДОТОКСИНІВ НА ГІСТОСТРУКТУРУ ПЕЧІНКИ ТА СЕЛЕЗІНКИ

I. М. Кушнір, д-р вет. наук

Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів
та кормових добавок,
вул. Донецька, 11, м. Львів, 79019, Україна

У статті подано результати досліджень щодо встановлення впливу бактерійних ендотоксинів кишкової палички на гістологічну структуру печінки та селезінки. На основі проведених гістологічних та ультраструктурних досліджень печінки було встановлено, що бактерійні ендотоксини спричиняють порушення структури мітохондрій, зменшення вмісту рибосом та збільшення кількості лізосом, що відобразилось вираженою білковою дистрофією гепатоцитів. У селезінці тварин дослідної групи виявлено порушення гемодинаміки, розпушення та набряк капсули, трабекул та ретикулярного каркасу, що зумовило зростання вагових коефіцієнтів органу. Крім того, встановлено зменшення лімфатичних вузликів і кількості лімфоїдних клітин.

Ключові слова: БАКТЕРІЙНІ ЕНДОТОКСИНИ, ГЕПАТОЦИТИ, ПЕЧІНКА, СЕЛЕЗІНКА, ЛІМФАТИЧНІ ВУЗЛИ.

Одним із факторів патогенності грамнегативних бактерій є ліпополісахариди (ЛПС), які характеризуються широким спектром біологічної активності (ендотоксичної, пірогенної), вектор якої визначається концентрацією ЛПС [1]. Молекула ЛПС складається з трьох частин: О-специфічного полісахариду, який зумовлює антигенну активність; олігосахариду, що підтримує цілісність зовнішньої мембрани та ліпиду А, який є ендотоксичним центром і відповідає за всі види токсичної активності [2].

Специфічними мішенями бактерійних ендотоксинів (БЕ) є макрофаги, нейтрофіли, лейкоцити, тромбоцити та клітини сполучної тканини. Під впливом ендотоксинів вони починають продукувати цитокіни та інші біологічні субстанції [3]. При надмірному надходженні ендотоксинів настають системні інтоксикаційні розлади кровообігу, що в кінцевому результаті призводить до виникнення ендогенного отруєння. У його розвитку важливу роль відіграє гіпоксія тканин і блокування тканинного дихання, що веде до накопичення лактату, пірувату і креатиніну, а також альдегідів, кетонів та карболових кислот. За умови проникнення цих речовин у кров'яне русло, змінюється кислотно-лужний баланс, внаслідок чого відбувається пряме ураження внутрішніх органів [4, 5]. Поряд з ушкодженими тканинами, у кров'яне русло також можуть проникати різні ферменти (трипсин, амілаза, трансаміназа, гіалуронідаза тощо), а також продукти протеолізу білків. За цих умов, порушується дезінтоксикаційна здатність організму, що призводить до розвитку синдрому ендогенного отруєння [6, 7]. Метою нашої роботи було вивчити вплив БЕ на гістологічну структуру печінки та селезінки лабораторних тварин.

Матеріали і методи. Для проведення досліджень сформували дві групи білих мишей, масою тіла 18-20 г. Бактерійний ендотоксин кишкової палички тваринам дослідної групи вводили підшкірно у дозі 0,4 мг/кг (1/10 DL₅₀) упродовж п'яти діб. Тваринам контрольної групи вводили ізотонічний розчин натрію хлориду. На шосту добу досліду, за легкого ефірного наркозу, проводили декапітацію тварин та здійснювали відбір печінки та селезінки для гістологічного дослідження. З цією метою зразки тканин органів фіксували у 10% нейтральному розчині формаліну. Після цього їх зневоднювали у ряді розчинів спирту з

висхідними концентраціями (70°, 80°, 90°, 96°), ущільнювали у двох порціях хлороформу та заливали в парафін. На санному мікромомі виготовляли зрізи, завтовшки від 5 мкм до 15 мкм, які фарбували гематоксиліном та еозином [8]. Світлову мікроскопію і мікрофотографування гістопрепаратів здійснювали за допомогою мікроскопа OLYMPUS CX 41 та фотокамери OLYMPUS C-5050.

Результати й обговорення. При гістологічному дослідженні печінки мишей контрольної групи встановлено чітку радіальну будову гепатоцитів (рис. 1). Цитоплазма їх зерниста, однорідно забарвлена. Ядра правильної округлої форми, багаті на хроматин (рис. 2). У паренхімі печінки виявили велику кількість гепатоцитів із двома ядрами.

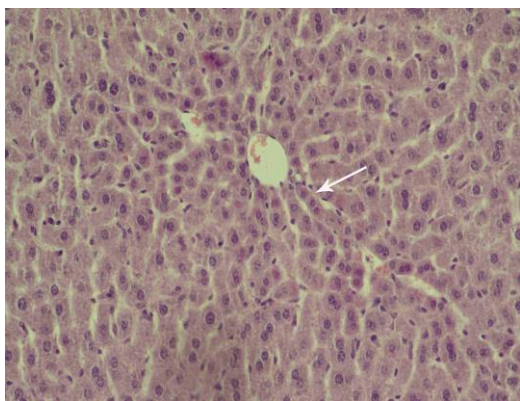


Рис. 1. Печінка мишей контрольної групи. Чітко виражена балкова будова гепатоцитів. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 10.

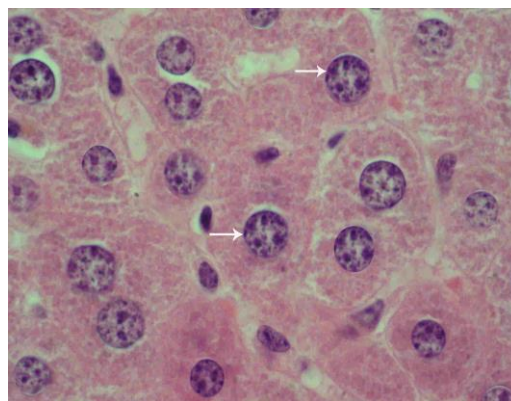


Рис. 2. Печінка мишей контрольної групи. Клітини контуровані, ядра збагачені хроматином (показано стрілкою). Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 100.

При гістологічному дослідженні печінки мишей дослідної групи виявляли дисконкомплексацию балкової будови часточок, розширення центральної вени та синусоїдальних капілярів (рис. 3). У більшості гепатоцитів цитоплазма неоднорідна, мутна з різно вираженою зернистістю, а в деяких клітинах цитоплазма просвітлена, містить прозорі вакуолі, контури розмиті.

Залежно від ступеня вираженості зернистої дистрофії, виявляли збільшення площі гепатоцитів і в меншій мірі ядра. Крім того ядра піддавались різним морфологічним змінам: одні були дещо зменшені, деформовані, гіпохромні, інші — лізовані (рис. 4). Виявлені зміни вказували на виражені процеси альтерації.

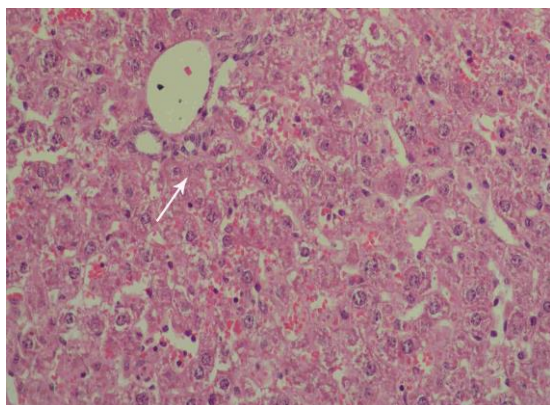


Рис. 3. Печінка мишей дослідної групи. Дисконкомплексация балкової будови часточки. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об.40.

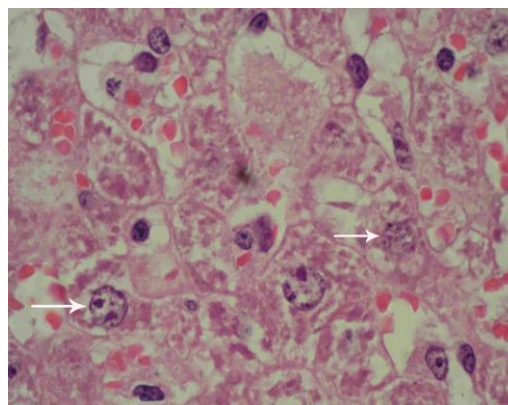


Рис. 4. Печінка мишей дослідної групи. Білкова дистрофія гепатоцитів. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 100.

У ділянці триад спостерігали круглоклітинну інфільтрацію навколо жовчевої протоки,

а в синусоїдальних капілярах — зростання кількості та величини зірчастих клітин (рис. 5).

Крім того, в ділянках із різним ступенем альтеративних змін гепатоцитів виявляли зернисту дистрофію, некроз, розпад і лізис клітин (рис. 6). У ділянках некрозу розміщувались залишки клітин, що розпадались і клітинні проліферати (зірчасті макрофагоцити — клітини Купфера, а також ендотелій капілярів, лімфоцити і плазматичні клітини).

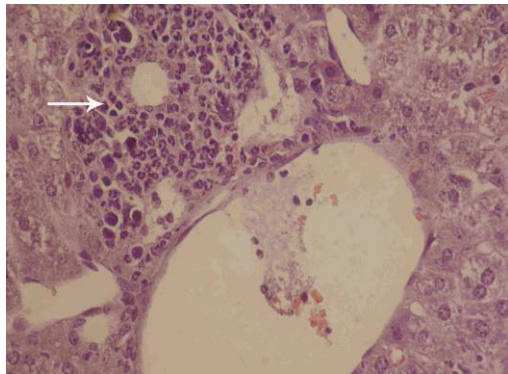


Рис. 5. Печінка мишей дослідної групи. Круглоклітинна інфільтрація навколо жовчевої протоки (показано стрілкою). Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 100.

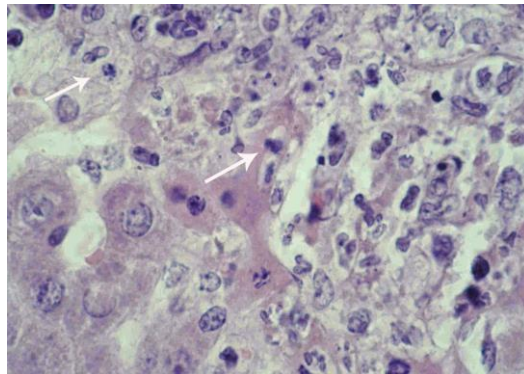


Рис. 6. Печінка мишей дослідної групи. Дистрофія і розпад гепатоцитів (показано стрілкою). Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 100.

При ультраструктурному дослідженні печінки мишей контрольної групи виявляли, що ядра гепатоцитів округлої форми, зовнішня і внутрішня оболонка ядра збережена. Хроматин розміщувався біля зовнішньої ядерної мембрани та в каріоплазмі. Мітохондрії мали чітко виражену зовнішню та внутрішню мітохондріальну мембрану. Мітохондріальні кристи заповнювали просвіт органели (рис. 7). Внутрішній мітохондріальний матрикс містив невелику кількість мітохондріальних гранул.

Провідним механізмом у розвитку білкової дистрофії є гіпоксія та дія БЕ на ферменти окисного фосфорилування, внаслідок чого в тканині нагромаджувалися недоокиснені продукти обміну. В результаті зростання активності гідролітичних ферментів лізосом проходила перебудова комплексних сполук клітини, що спричинювало набухання і вакуолізацію мітохондрій з деструкцією крист (рис. 8). При ультраструктурному дослідженні печінки мишей дослідної групи встановили різке зменшення вмісту гетерохроматину у ядрі, зовнішня оболонка ядра де-не-де порушена, цитоплазма клітин просвітлювалась, однак кількість лізосом зростала.

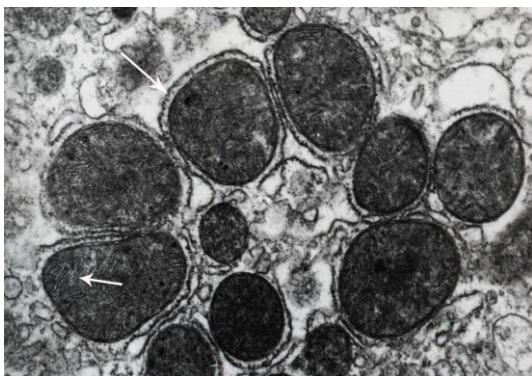


Рис. 7. Печінка мишей контрольної групи. Мітохондрії з великим вмістом крист. x 14 000.

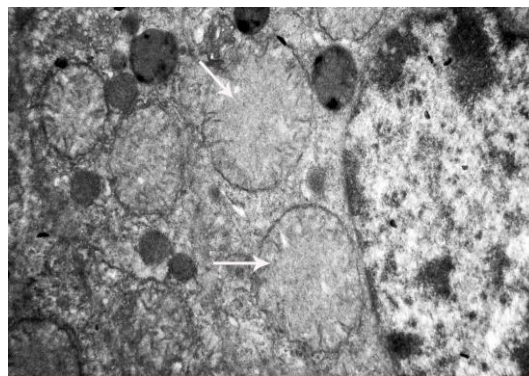


Рис. 8. Печінка мишей дослідної групи. Набухання, просвітлення мітохондрій і деструкція крист. x 14 000.

Мітохондрії гепатоцитів мишей дослідної групи набубнявілі, їх матрикс просвітлений, кристи частково зруйновані, а їх кількість суттєво зменшувалась, у порівнянні з електронограмами мишей контрольної групи (рис. 9). Цистерни гранулярного ендоплазматичного ретикулуму розширені, а на їх мембранах розміщувалась невелика кількість рибосом. У цитоплазмі виявляли зниження кількості гранул глікогену, рибосом і полісом.

Набубнявіння мітохондрій з деструкцією крист, просвітленням матриксу вказувало на значне пригнічення енергетичних процесів, а наявність лізосом підтверджувала значні порушення у метаболізмі клітин і посилення в них катаболічних процесів. У деяких мітохондріях внутрішня мембрана не проглядалась і органела перетворювалась у вакуолу, а в просвіті останньої були залишки крист.

Ультраструктурний стан ядра, фрагментація крист мітохондрій вказував на блокування ДНК і пригнічення синтезу РНК. Оскільки у кристах мітохондрій локалізуються основні системи ферментів реакції фосфорилування, то зрозуміло, що збережені оболонки мітохондрій не в стані підтримувати енергетичний баланс клітин. Відомо, що при пошкодженні мітохондрій інгібується поглинання кисню і окиснювальне фосфорилування.

Селезінка мишей контрольної групи темно-червоного кольору, відносно щільної консистенції. При мікроскопічному дослідженні було встановлено, що вона вкрита сполучнотканинною капсулою, від якої всередину органу відходили трабекули. Внутрішній шар капсули та трабекули містили поодинокі гладком'язові клітини та кровоносні судини. Паренхіма органу представлена червоною та білою пульпою. Імунокомпетентну частину органу складали лімфоїдні лімфатичні вузлики та периартеріальні лімфатичні муфти білої пульпи. Лімфатичні вузлики нерівномірно розміщувались по всій площині гістологічного зрізу. Однак, переважна більшість їх розміщувалась у периферичних ділянках селезінки. Лімфатичні вузлики чітко відокремлювались одні від одних та від червоної пульпи. В окремих лімфатичних вузликах виявляли світлі гермінативні центри (рис. 10). Середній діаметр лімфатичних вузликів селезінки складав $289 \pm 32,0$ мкм.

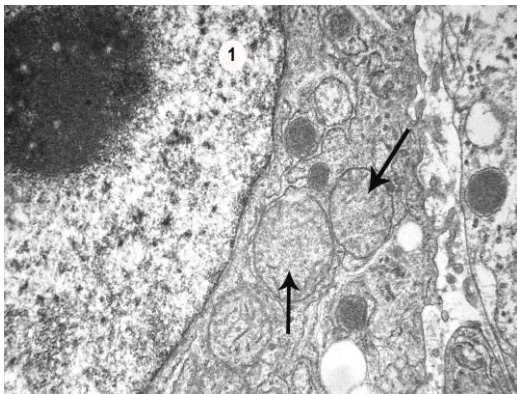


Рис. 9. Печінка мишей дослідної групи. Фрагмент ядра і цитоплазми гепатоцита (1). Набубнявіння мітохондрій з деструкцією крист (показано стрілкою) x 14 000.

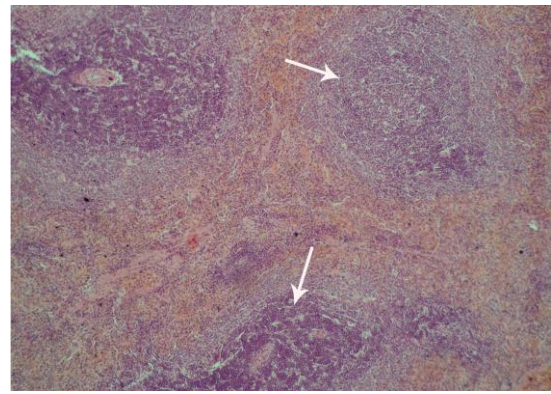


Рис. 10. Селезінка мишей контрольної групи. Чітко сформовані лімфатичні вузлики із світлими гермінативними центрами. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 10.

При огляді селезінки дослідної групи тварин було встановлено, що вона темно-вишневого кольору, капсула потовщена, на розрізі значний скребок пульпи. При мікроскопічному дослідженні виявлено, що кровоносні судини були повнокровними, стінки артерій значно потовщені. Синуси переповнені великою кількістю еритроцитів. У селезінці зміни білої пульпи мали помірно виражений характер. Середній діаметр лімфатичних вузликів дещо зменшувався — до 195 ± 27 мкм, а питомий об'єм червоної пульпи значно збільшувався. Також суттєво збільшувався відносний об'єм стромальних структур селезінки,

розвинувся субкапсулярний набряк та спостерігали розширення кровоносних судин (рис. 11, 12). У лімфатичних вузликах не виявляли гермінативних центрів.

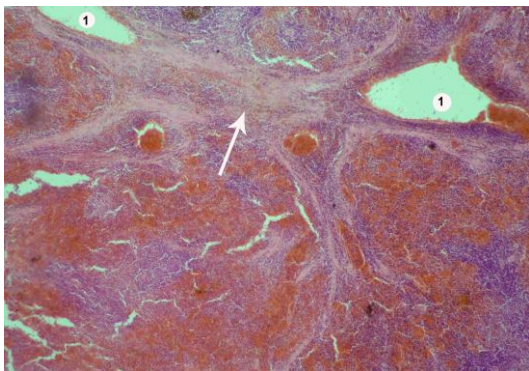


Рис. 11. Селезінка мишей дослідної групи. Набряк сполучної тканини трабекул (показано стрілкою), розширення просвіту лімфатичних судин (1). Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 10.

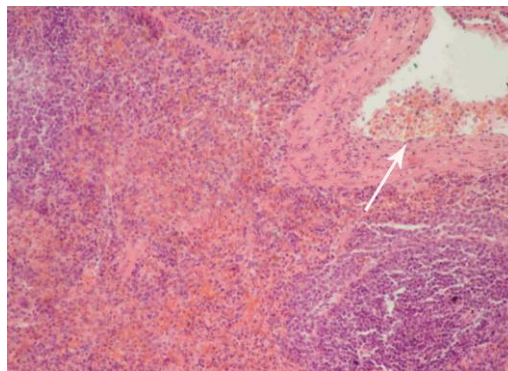


Рис. 12. Селезінка мишей дослідної групи. Розширення кровоносних судин. Гематоксилін та еозин. Ок. 10, об. 20.

ВИСНОВКИ

1. Бактерійні ендотоксини спричиняють розвиток дистрофічно-некробіотичні процеси в печінці, внаслідок чого пригнічується функціональна діяльність органу.

2. У селезінці виявлено порушення гемодинаміки, розпушення та набряк капсули, трабекул і ретикулярного каркасу, що зумовило зростання вагових коефіцієнтів органу, а зменшення лімфатичних вузликів і кількості лімфоїдних клітин призвело до зниження захисної функції організму.

Перспективи подальших досліджень. Розроблення способів дезінтоксикації організму при бактерійних ендотоксикозах.

INFLUENCE OF BACTERIAL ENDOTOXINS ON HISTO-STRUCTURE OF LIVER AND SPLEEN

I. M. Kuchnir

State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives,
11, Donetska str., Lviv, 79019, Ukraine

SUMMARY

The article presents the results of research of establishing the impact of *E. coli* bacterial endotoxins on the histological structure of the liver and spleen. On the basis of histological and ultrastructural studies of the liver it was found that bacterial endotoxins had caused violations of the structure of mitochondria, reduction of ribosomes and increase the number of lysosomes, reflected the expressed protein dystrophy of hepatocytes. In the spleen of animal research group it was found violations of hemodynamics, loosening and swelling of the capsule, trabeculae and reticular frame, resulting in increase in body weight ratios. Also, there was set reduction of lymph nodes and the number of lymphoid cells

Keywords: BACTERIAL ENDOTOXINS, HEPATOTSYTY, LIVER, SPLEEN, LYMPH NODES.

ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЭНДОТОКСИНОВ НА ГИСТОСТРУКТУРУ ПЕЧЕНИ И СЕЛЕЗЕНКИ

И. М. Кушнир

Государственный научно-исследовательский контрольный институт ветеринарных препаратов и кормовых добавок
ул. Донецкая, 11, г. Львов, 79019, Украина

А Н Н О Т А Ц И Я

В статье представлены результаты исследований влияния бактериальных эндотоксинов кишечной палочки на гистологическую структуру печени и селезенки. На основе проведенных гистологических и ультраструктурных исследований печени было установлено, что бактериальные эндотоксины вызывают нарушение структуры митохондрий, уменьшение содержания рибосом и рост лизосом, что отразилось выраженной белковой дистрофией гепатоцитов. В селезенке животных опытной группы выявлены нарушения гемодинамики, разрыхление и отек капсулы, трабекул и ретикулярного каркаса, что обусловило рост весовых коэффициентов органа. Кроме того, установлено уменьшение лимфатических узелков и количества лимфоидных клеток.

Ключевые слова: БАКТЕРИАЛЬНЫЕ ЭНДОТОКСИНЫ, ГЕПАТОЦИТЫ, ПЕЧЕНЬ, СЕЛЕЗЕНКА, ЛИМФАТИЧЕСКИЕ УЗЛЫ.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Яковлев М. Ю. Элементы эндотоксиновой теории физиологии и патологии человека / М. Ю. Яковлев // Физиология человека. — 2003. — Т. 29, № 4. — С. 98–109.
2. Яковлев М. Ю. Кишечный липополисахарид: системная эндотоксинемия, эндотоксиновая агрессия, SIR-синдром и полиорганная недостаточность, как звенья одной цепи / М. Ю. Яковлев // Бюлл. ВНИЦ РАМН. — 2005. — № 1. — С. 15–18.
3. Grotz M. R. Intestinal cytokine response after gut ischemia: role of gut barrier failure / M. R. Grotz // Ann. Surg. — 1999, Apr. — Vol. 229 (4). — P. 478–486.
4. Исследование уровня пептидов "средних молекул" в плазме крови больных с различными формами острых нарушений мозгового кровообращения / А. М. Белоус, А. Н. Мохаммед, В. А. Яворская [и др.] // Доповіді НАН України. — 1997. — № 8. — С. 177–181.
5. Аксенова В. М. Диагностическая ценность определения уровня веществ средней молекулярной массы в плазме новорожденных детей, перенесших внутриутробную гипоксию // В. М. Аксенова, А. В. Старкова // Перм. мед. журнал. — 1985. — Т. 15, № 1 — С. 25–28.
6. Шубчинський В. В. Ендотоксична активність ліпополісахаридів *Pragia Fontium* / В. В. Шубчинський, Л. Д. Варбанець, О. С. Броварська // Современные проблемы токсикологии. — № 4. — 2007. — С. 35–38.
7. Современные аспекты патогенеза эндотоксинового шока / И. М. Салахов, А. И. Ипатов, Ю. В. Конев [и др.] // Успехи современной биологии. — 1998. — № 1. — С. 33–49.
8. Меркулов Г. А. Курс патогистологической техники. Л.: "Медицина", 1963. — 423 с.

Рецензент — Г. І. Коцюмбас, д. вет. н., професор, Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького.