

МОРФОМЕТРИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭФФЕКТОВ ФРАКЦИЙ ЛИПОПОЛИСАХАРИДА *ENSIFER MELILOTI* НА ПАРЕНХИМАТОЗНЫЕ ОРГАНЫ ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС С ВТОРИЧНЫМ ИММУНОДЕФИЦИТОМ

А.Р. Мавзютов¹, Л.Р. Глазутдинова¹, Д.В. Саньчиков¹, В.С. Щекин¹,
Р.Р. Гарафутдинов², А.В. Чижова¹, А.Р. Габдрахманова³

¹ Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа, Россия

² Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, г. Уфа, Россия

³ ГБУЗ МЗ РБ Городская клиническая больница № 13, г. Уфа, Россия

Резюме. *Введение.* Липополисахариды грамотрицательных бактерий (ЛПС) более известны как бактериальные эндотоксины. Однако в специальной литературе все больше данных о целом ряде физиологических эффектов ЛПС, наблюдаемых и в норме. В частности, показана иммуномодулирующая активность ЛПС некоторых видов бактерий. Цель исследования — характеристика физиологических эффектов липополисахаридов *Ensifer meliloti* при индуцированном иммунодефиците у крыс в эксперименте. *Материалы и методы.* На 60 беспородных крысах-самцах, у которых индуцировали иммунодефицитное состояние при внутрибрюшинном введении цитостатика — циклофосамида, исследована биологическая активность фракций ЛПС *E. meliloti*. Исследуемые фракции ЛПС *E. meliloti* вводили внутрибрюшинно через 24 часа после инъекции ЦФ в течение 21 дня. На 22-е сутки эксперимента лабораторные животные подвергались эвтаназии и аутопсии с последующим морфометрическим исследованием внутренних органов. В дальнейшем парафиновые срезы паренхиматозных органов окрашивались гематоксилин-эозином и исследовались гистологически посредством световой микроскопии. *Результаты.* Установлено, что при введении циклофосамида лабораторным животным по окончании периода наблюдения имело место незначительное снижение массы печени и почек; вес сердца и селезенки оставался неизменным (в сравнении с интактными животными). Однако указанные изменения были статистически не значимы. Статистически достоверно у иммунодефицитных крыс в сравнении с животными контрольной группы увеличивался лишь вес легких. При внутрибрюшинном введении фракций ЛПС на фоне вторичного иммунодефицита изменяются весовые характеристики наиболее интенсивно кровоснабжаемых органов (печень и почки), что указывает на системный характер их эффектов. В селезенке отмечено характерное увеличение количества фолликулов с крупными герминативными центрами, а также вторичных фолликулов стромы органа с образованием лимфоидных муфт; в печени — лимфоидная инфильтрация в портальных трактах и восстановление до нормы сосудистого рисунка; в легких при введении ЛПС и «Ликопада» — выраженная

Адрес для переписки:

Мавзютов Айрат Радикович
450008, Россия, г. Уфа, ул. Ленина, 96/98
ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский
университет МЗ РФ.
Тел.: 8 (347) 276-19-60.
E-mail: ufalab@mail.ru

Contacts:

Ayrat R. Mavzyutov
450008, Russian Federation, Ufa, Lenin str., 96/98,
Bashkir State Medical University.
Phone: +7 (347) 276-19-60.
E-mail: ufalab@mail.ru

Для цитирования:

Мавзютов А.Р., Глазутдинова Л.Р., Саньчиков Д.В., Щекин В.С.,
Гарафутдинов Р.Р., Чижова А.В., Габдрахманова А.Р. Морфометрическая
характеристика эффектов фракций липополисахарида *Ensifer meliloti*
на паренхиматозные органы лабораторных крыс с вторичным
иммунодефицитом // Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11, № 1. С. 93–100.
doi: 10.15789/2220-7619-MCO-1242

Citation:

Mavzyutov A.R., Glazutdinova L.R., Sanchokov D.V., Shchekin V.S.,
Garafutdinov R.R., Chizhova A.V., Gabdrakhmanova A.R. Morphometric
characteristics of effects induced by *Ensifer meliloti* lipopolysaccharide
fractions on parenchymatous organs in laboratory rats with secondary
immunodeficiency // Russian Journal of Infection and Immunity =
Infektsiya i immunitet, 2021, vol. 11, no. 1, pp. 93–100. doi: 10.15789/2220-
7619-MCO-1242

гиперплазия лимфоидной ткани с крупными герминативными центрами. *Заключение.* Полученные данные свидетельствуют о том, что исследованные фракции ЛПС *E. meliloti* при вторичном иммунодефиците у крыс вызывают положительные изменения иммунореактивности.

Ключевые слова: липополисахариды, *E. meliloti*, крысы, вторичный иммунодефицит, «Ликопид», гистология.

MORPHOMETRIC CHARACTERISTICS OF EFFECTS INDUCED BY *ENSIFER MELILOTI* LIPOPOLYSACCHARIDE FRACTIONS ON PARENCHYMATOUS ORGANS IN LABORATORY RATS WITH SECONDARY IMMUNODEFICIENCY

Mavzyutov A.R.^a, Glazutdinova L.R.^a, Sanchokov D.V.^a, Shchekin V.S.^a, Garafutdinov R.R.^b, Chizhova A.V.^a, Gabdrakhmanova A.R.^c

^a Bashkir State Medical University, Ufa, Russian Federation

^b Institute of Biochemistry and Genetics UFRC RAS, Ufa, Russian Federation

^c City Clinical Hospital No. 13, Ufa, Russian Federation

Abstract. *Introduction.* Gram-negative bacteria-derived lipopolysaccharides (LPS) are better known as bacterial endotoxins. However, an increasing body of evidence has been accumulated regarding a whole range of LPS-bound physiological effects also observed in normal settings. In particular, LPS derived from some bacterial species was shown to exhibit an immunomodulating activity. Study objective — to characterize physiological effects of *Ensifer meliloti* lipopolysaccharides in modelled rat induced immunodeficiency. *Materials and methods.* Biological activity of intraperitoneally administered *E. meliloti* LPS fractions was studied for 21 days in 60 outbred male rats after induction of a minimal immunodeficiency state 24 hours later after inoculating cytostatic agent cyclophosphamide (CF). Animals were euthanized on day 22 followed by conducting an autopsy and morphometric study of internal organs. Later, paraffin-embedded sections of parenchymal organs were stained with hematoxylin-eosin and examined histologically by light microscopy. *Results.* It was found that at the end of the experiment cyclophosphamide applied to laboratory animals insignificantly decreased weight of liver and kidney, but not that of heart and spleen (compared to intact animals). In contrast, lung weight was solely significantly increased in immunodeficient rats compared to control. Intraperitoneally administered LPS fractions during secondary immunodeficiency affected weight parameters in the liver and kidney as the most intensively blood supplied organs suggesting its systemic effects. Quantity of follicles with large germinal centers as well as secondary follicles and lymphatic sheath formation in splenic stroma was increased that features activated immune response. Moreover, hepatic lymphoid infiltration in the portal tracts and reversal to normal vascular pattern were found as well. In contrast, LPS and Lycopid administered to rats resulted in marked lung hyperplasia of lymphoid tissue containing large germinal centers. *Conclusion.* The data obtained indicate that *E. meliloti*-derived LPS fractions administered to rats with secondary immunodeficiency positively affected immunoreactivity.

Key words: LPS, *E. meliloti*, rats, secondary immunodeficiency, Lycopid, histology.

Введение

Одной из наиболее актуальных проблем медицины остается сепсис [1], этиологию которого в 60–70% случаев связывают с микроорганизмами [2, 3]. В качестве основного индуктора системных воспалительных реакций при этом рассматривается участие липополисахарида клеточной стенки (ЛПС) грамотрицательных бактерий, взаимодействующего с Toll-подобными рецепторами типа 4 (TLR-4), что впоследствии приводит к развитию сверхсильного иммунного ответа [4]. В частности, ЛПС рассматривается в качестве одного из основных факторов вирулентности *Yersinia pestis* и патогенных вариантов *Yersinia pseudotuberculosis* [5, 6, 7].

На молекулярном уровне участие и негативные эффекты ЛПС достаточно хорошо охарактеризованы при различных патологических состояниях, как у человека, так и у лабораторных животных [8, 9, 10, 11]. При этом установлено, что системная эндотоксинемия имеет место и в норме. Так, например, физиологическая концен-

трация ЛПС в кровотоке составляет 3–10 пкг/мл [12], и при таких небольших концентрациях ЛПС клеточной стенки грамотрицательных бактерий обладает иммуномодулирующей активностью [13, 14]. Более того, установлено, что ЛПС-опосредованная активация TLR-4 может сопровождаться положительным пролиферативным влиянием на стволовые клетки нервной системы, способствуя их дифференцировке и повышая выживаемость, например, иммунодефицитных крыс и мышей [15].

В исследовании Vincent J.L. и соавт. была продемонстрирована возможность препаративного выделения фракций ЛПС *Escherichia coli* [16]. В этой связи определенным научным интересом представляет оценка биологической активности фракций ЛПС, выделенных из непатогенных для человека грамотрицательных бактерий, относящихся к виду *Ensifer meliloti* и являющихся естественными азотфиксирующими симбионтами бобовых растений [17].

Цель исследования — характеристика физиологических эффектов ЛПС *E. meliloti* на орган-

ном и тканевом уровне в эксперименте на лабораторных крысах с индуцированным иммунодефицитом для экспериментальной оценки иммуномодулирующих перспектив липополисахаридов грамотрицательных бактерий.

Материалы и методы

Для выделения и исследования биологической активности липополисахарида использовали культуру *E. meliloti*, штамм Л-14 из коллекции микроорганизмов «Симбионт» (Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, г. Уфа), выделенный из клубеньков люцерны посевной. Чистую культуру *E. meliloti* наращивали в чашках Петри на твердой питательной среде УМ при 28°C до завершения экспоненциальной фазы роста. Для выделения липополисахаридов использовали описанный нами ранее способ, заключающийся в получении ЛПС с помощью жидкостной колоночной хроматографии в модификации, исключавшей этап фенольной экстракции ЛПС из биомассы. Принадлежность полученных в ходе выделения веществ к ЛПС была подтверждена спектроскопией ЯМР ¹H [16].

Исследование биологической активности фракций ЛПС *E. meliloti* проводили на 60 беспородных крысах-самцах (231±27 г) из уфимского питомника (страна происхождения — Польша). Экспериментальные животные содержались в стандартных условиях вивария ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России с естественным световым режимом, на стандартном рационе питания, со свободным доступом к воде и пище. Все манипуляции с лабораторными животными проводились с соблюдением приказа № 742 Министерства высшего и среднего специального образования СССР от 13 ноября 1984 г. «Об утверждении Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных». Животные были разделены на 6 групп (n = 10) для каждого эксперимента случайным образом, с использованием в качестве критерия массы тела (табл. 1).

Иммунодефицитное состояние лабораторных животных индуцировали с помощью цитостатика — циклофосфамида (ЦФ) в форме лекарственного препарата «Эндоксан» (Baxter, США) в дозе 50 мг/кг, за 24 ч до введения образцов исследуемого биологического материала.

Исследуемые фракции ЛПС *E. meliloti* вводили внутрибрюшинно через 24 ч после инъекции ЦФ и предварительного разведения в физиологическом растворе — ежедневно в течение 21 дня в физиологической для крыс дозе 0,1 мг/кг. Препаратом сравнения для оценки иммуномодулирующей активности служил «Ликопид» (ЗАО «Пептек», Россия) в терапевтической дозе в 0,2 мг/кг.

На 22-е сутки лабораторные животные выводились из эксперимента посредством эвтаназии в эксикаторе передозировкой диэтилового эфира для наркоза, после чего каждую крысу подвергали аутопсии с последующим морфометрическим исследованием органов. В дальнейшем парафиновые срезы паренхиматозных органов окрашивались гематоксилин-эозином и исследовались гистологически посредством световой микроскопии.

Для статистической обработки данных применялись непараметрические методы, для описания количественных признаков в малых выборках — медиана (Me) и интерквартильный размах (Q1–Q3), для расчета статистической значимости различий количественных признаков между группами — непараметрический критерий Манна–Уитни для двух независимых групп. Отличия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Из *Ensifer meliloti* было получено 3 фракции ЛПС — ЛПС-1, ЛПС-2, ЛПС-3, принадлежность которых к липополисахаридам была подтверждена спектроскопией ЯМР ¹H. Спектр одной из фракций показан на рис. 1.

Все 3 фракции выходили из колонки на этапе элюции смесью этанол–триэтиламин, хорошо растворялись в воде и имели спектры ЯМР ¹H, идентичные по сигналам, но различавшиеся по интегральной интенсивности пиков. Последнее могло быть обусловлено различной степенью редукции олигосахаридной части молекулы ЛПС. Наименее редуцированной по углеводному фрагменту являлась фракция ЛПС-2, однако для дальнейшей работы были взяты все три фракции ЛПС.

Морфометрическая характеристика

Установлено, что при введении циклофосфамида лабораторным животным по окончании периода наблюдения имело место незначительное снижение массы печени и почек; вес сердца и селезенки оставался неизменным (в сравнении с интактными животными). Однако указанные изменения были статистически не значимы. Статистически достоверно у иммунодефицитных крыс в сравнении с показателями контрольной группы увеличивался лишь вес легких (табл. 2).

Намного более выраженные изменения весовых характеристик внутренних органов имели место при введении иммунодефицитным крысам исследуемых фракций ЛПС и препарата сравнения («Ликопид»). Так, введение ЛПС-2, ЛПС-3 или «Ликопида» сопровождалось достоверным и сопоставимым увеличением мас-

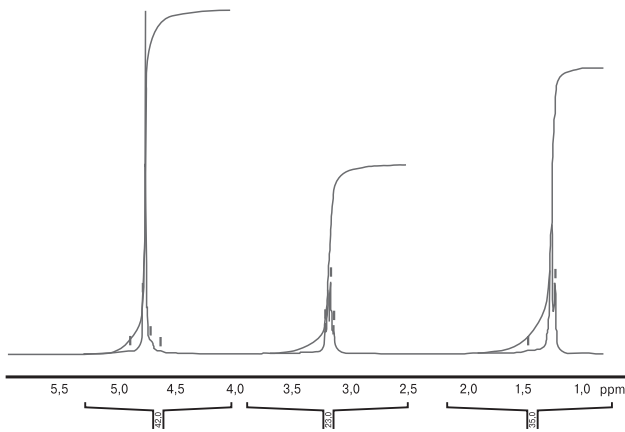


Рисунок 1. Спектр ЯМР ^1H фракции ЛПС-3 *E. meliloti*

Figure 1. NMR spectrum ^1H of *E. meliloti* LPS-3 fraction

Примечание. В полученном спектре наблюдались характерные сигналы протонов жирнокислотных остатков при 1,3 м.д. (группа протонов I), CH_2 -групп, сопряженных с полярными фрагментами, при 3,2 м.д. (группа протонов II) и протонов углеводных остатков при 4,8 м.д. (группа протонов III).

Note. The spectrum obtained, demonstrated characteristic signals of fatty acid residues protons were observed at 1.3 ppm. (group of protons I), CH_2 -groups conjugated with polar fragments, at 3.2 ppm (group of protons II) and protons of carbohydrate residues at 4.8 ppm (group of protons III).

сы и печени и почек до их нормальных значений, наблюдавшихся у интактных животных (табл. 2).

Вес легких за период наблюдения не восстанавливался до нормальных значений и был сопоставим с массой этого органа в группе животных с индуцированным иммунодефицитом (табл. 2).

Вес селезенки оставался неизменным и достоверно не менялся как в группе интактных животных, так и в группах сравнения (табл. 2).

Масса сердца достоверно увеличилась только в группе животных с иммунодефицитом, которым вводился «Ликопид», тогда как у интактных, иммунодефицитных без коррекции (группа 2) и иммунодефицитных животных, которым вводили все исследованные фракции ЛПС или «Ликопид», вес сердца оставался без значимого изменения (табл. 2).

Намного более существенные реактивные изменения были обнаружены при гистологическом исследовании паренхиматозных органов иммунодефицитных животных.

Гистологическая характеристика

Селезенка. В контрольной группе рисунок органа был сохранен. Так, ткань селезенки была представлена крупными фолликулами с умеренным количеством лимфоидных муфт и полнокровием красной пульпы, что соответствовало норме. В группе животных с индуцированным

иммунодефицитом отмечалось подавление лимфоидной ткани с редукцией фолликулов за счет мантийной зоны, атрофией лимфоидных муфт в строме органа и отсутствием герминативных центров. При введении иммунодефицитным животным «Ликопид» морфологически формировалось состояние умеренной гиперплазии фолликулов селезенки с увеличением количества герминативных центров и вторичных фолликулов (рис. 2, II обложка).

При введении животным отдельных фракций ЛПС на фоне иммунодефицита существенных различий между фракциями не было. Однако в целом при введении ЛПС в сравнении с «Ликопидом» увеличение количества фолликулов селезенки с крупными герминативными центрами, расширением мантийной зоны, увеличением вторичных фолликулов и появлением лимфоидных муфт в строме органа было более выраженным. Это свидетельствует о том, что при введении ЛПС на фоне иммунодефицита в селезенке имеет место лимфоидная гиперплазия и активируется иммунный ответ (рис. 2, II обложка).

Печень. Ткань печени в контрольной группе животных была сохранена. Центральные вены долек малокровные, в портальных трактах обнаруживалась незначительная лимфоидная инфильтрация. В печени интактных животных с иммунодефицитом гистологически отмечена выраженная лимфоидная инфильтрация в портальных трактах. Аналогичная гистологическая картина имела место и в группе иммунодефицитных животных, которым вводили «Ликопид», характеризовавшаяся полнокровием сосудов и отеком стромы. В отличие от вышеуказанного в группе животных с индуцированным иммунодефицитом при введении ЛПС лимфоидная инфильтрация в портальных трактах была незначительной, сосуды были малокровными, что приближает подобную картину к норме, наблюдавшейся в контрольной группе (рис. 3, III обложка).

Легкие. В легких животных контрольной группы отмечается лимфоидная перибронхиальная и периваскулярная инфильтрация легочной ткани, в большей степени обусловленная воздействием эфира для вывода животных из эксперимента. В группе интактных иммунодефицитных животных, напротив, гистологически имело место подавление и уменьшение лимфоидной ткани, характеризовавшееся отсутствием лимфоидных муфт. В противоположность этому в группе, получавшей «Ликопид», обнаруживалось полнокровие сосудов и капилляров межальвеолярной перегородки, а также умеренная гиперплазия лимфоидной ткани. В группе иммунодефицитных животных, которым вводили ЛПС, имело место полнокро-

Таблица 1. Описание экспериментальных групп

Table 1. Description of experimental groups

Номер группы Group number	Обозначение Name of groups	Описание Description
Группа 1 Group 1	Интактная группа Intact group	Ничего не вводили No injections
Группа 2 Group 2	Контрольная группа Control group	Одноразовая внутрибрюшинная инъекция ЦФ + 21 день вводили воду Single intraperitoneal injection of cyclophosphamide + 21 days of water injection
Группа 3 Group 3	ЛПС <i>Ensifer meliloti</i>, фракция 1 LPS <i>Ensifer meliloti</i> , fraction No. 1	Одноразовая внутрибрюшинная инъекция ЦФ + 21 день вводили ЛПС <i>Ensifer meliloti</i>, фракция 1 Single intraperitoneal injection of cyclophosphamide + 21 days of/LPS <i>Ensifer meliloti</i> fraction No. 1 injection
Группа 4 Group 4	ЛПС <i>Ensifer meliloti</i>, фракция 2 LPS <i>Ensifer meliloti</i> , fraction No. 2	Одноразовая внутрибрюшинная инъекция ЦФ + 21 день вводили ЛПС <i>Ensifer meliloti</i>, фракция 2 Single intraperitoneal injection of cyclophosphamide + 21 days of/LPS <i>Ensifer meliloti</i> fraction No. 2 injection
Группа 5 Group 5	ЛПС <i>Ensifer meliloti</i>, фракция 3 LPS <i>Ensifer meliloti</i> , fraction No. 3	Одноразовая внутрибрюшинная инъекция ЦФ + 21 день вводили ЛПС <i>Ensifer meliloti</i>, фракция 3 Single intraperitoneal injection of cyclophosphamide + 21 days of/LPS <i>Ensifer meliloti</i> fraction No. 3 injection
Группа 6 Group 6	«Ликопид» Licopid	Одноразовая внутрибрюшинная инъекция ЦФ + 21 день вводили «Ликопид» Single intraperitoneal injection of cyclophosphamide + 21 days of Licopid injection

вие сосудов и капилляров межальвеолярной перегородки, как и при введении «Ликопида». Однако наряду с этим была обнаружена гиперплазия лимфоидной ткани с крупными герминативными центрами, что говорит об активации иммунного ответа (рис. 4, III обложка).

Обсуждение

Сепсис-индуцирующие эффекты ЛПС к настоящему моменту достаточно полно охарактеризованы [1, 2, 3, 4]. Однако, учитывая, что источником ЛПС является большое количество представителей грамотрицательной микробиоты, сопровождающей человека на протяжении всей его жизни и не вызывающей при этом септических состояний [12], представляется логичным предположение о существовании предшествующих этапов, на которых ЛПС может оказывать отличающиеся по силе и характеру биологические эффекты. Их регистрация даже в эксперименте при введении ЛПС в критичных, приводящих к системному воспалительному ответу условиях проблематична. В связи с этим первым постулатом, исходя из которого планировалось данное исследование, стало изучение не цельных препаратов бактериальных липополисахаридов, а их отдельных фракций.

Вторым постулатом, на котором выстраивалась логика исследования, было понимание быстротечности, силы и многообразия эффектов ЛПС при развитии сепсиса в силу их цитокин-

опосредованного механизма, что практически исключало возможность регистрации досептических эффектов физиологических концентраций ЛПС или их фракций. Указанное послужило основанием для рассмотрения связей между эффектами исследуемых соединений и морфологическими изменениями органов, которые при сепсисе становятся основной ареной системного воспалительного ответа и одновременно отличаются большей стабильностью.

В результате проведенных исследований показано, что при внутрибрюшинном введении фракций ЛПС изменения весовых характеристик преимущественно касались наиболее интенсивно кровоснабжаемых органов — печени и почек. Это указывает на системный характер их эффектов. Однако восстановление их веса до нормальных значений на фоне иммунодефицита при введении крысам исследуемых фракций ЛПС и препарата сравнения («Ликопид») может отражать их компенсаторный физиологический характер (табл. 2).

Гистологически установлено, что при внутрибрюшинном введении циклофосфамида вторичное иммунодефицитное состояние обуславливается не только снижением функциональной активности лимфоидных клеток, как было показано ранее [13], но и вполне конкретными морфологическими изменениями органов, прямо или косвенно задействованных в реализации иммунного ответа. Так, угнетение лимфоидной ткани было отмечено в селе-

Таблица 2. Влияние фракций липополисахарида *E. meliloti* на весовые характеристики паренхиматозных органов крысTable 2. Influence of *E. meliloti* lipopolysaccharide fractions on the weight characteristics in rat parenchymal organs

Показатель Measure	Группы крыс/Groups of rats					
	1 (n = 10) Интактные Intact group	2 (n = 10) Контроль без лечения Control	3 (n = 10) ЛПС-1 LPS-1	4 (n = 10) ЛПС-2 LPS-2	5 (n = 10) ЛПС-3 LPS-3	6 (n = 10) «Ликопид» Licopid
Селезенка/Spleen						
M±σ Me/[Q1–Q3]	1,1±0,262 1,05/[1,0–1,3]	1,05±0,255 1,1/[0,9–1,3] p ₁₋₂ = 0,816	1,08±0,27 1,1/[0,8–1,3] p ₂₋₃ = 0,734	1,15±0,19 1,2/[0,9–1,3] p ₂₋₄ = 0,473	1,16±0,384 1,1/[0,8–1,5] p ₂₋₅ = 0,597	1,17±0,149 1,2/[1,1–1,3] p ₂₋₆ = 0,406
Печень/Liver						
M±σ Me/[Q1–Q3]	9,1±1,179 9,55/[8,0–10,1]	7,95±1,58 7,5/[7,2–9,4] p ₁₋₂ = 0,088	9,25±1,869 9,05/[8,3–9,5] p ₂₋₃ = 0,226	10,21±1,371 9,8/[9,7–10,0] p ₂₋₄ = 0,004	9,88±1,734 9,7/[8,8–10,7] p ₂₋₅ = 0,026	9,67±1,164 9,85/[8,7–10,4] p ₂₋₆ = 0,023
Почки/Kidney						
M±σ Me/[Q1–Q3]	1,63±0,2 1,65/[1,5–1,7]	1,54±0,217 1,5/[1,4–1,7] p ₁₋₂ = 0,283	1,68±0,235 1,6/[1,5–1,8] p ₂₋₃ = 0,174	1,74±0,171 1,75/[1,7–1,8] p ₂₋₄ = 0,026	1,77±0,231 1,8/[1,5–1,9] p ₂₋₅ = 0,045	1,93±0,206 1,9/[1,8–2,1] p ₂₋₆ = 0,003
Сердце/Heart						
M±σ Me/[Q1–Q3]	0,87±0,106 0,9/[0,8–0,9]	0,91±0,099 0,9/[0,9–0,9] p ₁₋₂ = 0,231	0,87±0,142 0,8/[0,8–0,8] p ₂₋₃ = 0,212	0,84±0,126 0,8/[0,8–0,8] p ₂₋₄ = 0,104	0,99±0,202 0,95/[0,8–1,2] p ₂₋₅ = 0,496	1,05±0,158 1,0/[0,9–1,1] p ₂₋₆ = 0,038
Легкие/Lungs						
M±σ Me/[Q1–Q3]	1,96±0,303 1,85/[1,7–2,1]	2,29±0,415 2,2/[2,0–2,5] p ₁₋₂ = 0,047	2,210±0,57 2,15/[1,9–2,5] p ₂₋₃ = 0,571	2,07±0,291 2,0/[1,8–2,2] p ₂₋₄ = 0,212	2,44±0,465 2,35/[2,3–2,8] p ₂₋₅ = 0,326	2,55±0,314 2,6/[2,3–2,8] p ₂₋₆ = 0,089

Примечания. Различия статистически значимы ($p < 0,05$) при сравнении показателей: p₁₋₂ — интактной и контрольной групп;p₂₋₃ — контрольной и 3 групп; p₂₋₄ — контрольной и 4 групп; p₂₋₅ — контрольной и 5 групп; p₂₋₆ — контрольной и 6 групп.Notes. Differences are statistically significant ($p < 0.05$) while comparing parameters between: p₁₋₂ — intact and control groups; p₂₋₃ — control group and 3rd groups; p₂₋₄ — control group with 4th group; p₂₋₅ — control group and 5th group; p₂₋₆ — control group with 6th group.

зенке, печени и легких лабораторных животных, у которых при введении циклофосфида наблюдали достаточно схожие гистологические изменения.

Вместе с тем компенсаторные механизмы ответных реакций указанных паренхиматозных органов, инициируемых исследуемыми в данной работе иммунорегуляторными соединениями, имели гистологическую специфику.

Так, в селезенке морфологические изменения, связанные с введением «Ликопида» и исследуемых фракций ЛПС, были наиболее выраженными. При введении ЛПС в сравнении с «Ликопидом» имело место более значительное повышение количества фолликулов селезенки с крупными герминативными центрами и расширением мантийной зоны, увеличением вторичных фолликулов и с образованием лимфоидных муфт в строме органа, что в совокупности указывает на лимфоидную гиперплазию, наблюдаемую при активации иммунореактивности.

В печени экспериментальных животных на фоне индуцированного иммунодефицита

преимущественно отмечалось снижение интенсивности кровоснабжения и выраженная лимфоидная инфильтрация в портальных трактах. При введении «Ликопида» на фоне иммунодефицита кровоснабжение органа становилось избыточным, что сопровождалось последующим отеком стромы. Тогда как при введении ЛПС лимфоидная инфильтрация в портальных трактах была незначительной, сосуды были малокровными, что соответствовало картине, наблюдавшейся в контрольной группе.

В ткани легкого, как и в печени, при введении «Ликопида» отмечалось полнокровие сосудов и капилляров межальвеолярной перегородки, а также умеренная гиперплазия лимфоидной ткани. В группе иммунодефицитных животных, которым вводили ЛПС, как и при введении «Ликопида», имело место полнокровие сосудов и капилляров межальвеолярной перегородки. Однако наряду с этим имела место выраженная гиперплазия лимфоидной ткани с крупными герминативными центрами, что также указывало на активацию иммунного ответа.

Таким образом, представленные экспериментальные данные могут служить достаточно весомым и, что важно, воспроизводимым доказательством физиологических эффектов системной ЛПС-опосредованной эндотоксинемии, прикладные перспективы которых, на наш взгляд, очевидны.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере по программе «УМНИК-Хелснет-НТИ-2017», Москва.

Список литературы/References

1. Дентовская С.В., Платонов М.Е., Бахтеева И.В., Анисимов А.П. Наличие полной структуры кора липополисахарида необходимо для активации плазминогена возбудителя чумы // Проблемы особо опасных инфекций. 2007. Вып. 93. С. 49–51. [Dentovskaya S.V., Platonov M.E., Bakhteyeva I.V., Anissimov A.P. The presence of the complete lipopolysaccharide core structure is necessary for the activation of *Yersinia pestis* plasminogen. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2007, iss. 93, pp. 49–51. (In Russ.)]
2. Дентовская С.В., Платонов М.Е., Комбарова Т.И., Титарева Г.М., Бахтеева И.В., Шайхутдинова Р.З., Иванов С.А., Анисимов А.П. Укорочение кора липополисахарида снижает вирулентность *Yersinia pestis* // Проблемы особо опасных инфекций. 2009. Вып. 99. С. 50–51. [Dentovskaya S.V., Platonov M.E., Kombarova T.I., Titareva G.M., Bakhteyeva I.V., Shaikhutdinova R.Z., Ivanov S.A., Anisimov A.P. Truncation of lipopolysaccharide core decreases *Yersinia pestis* virulence. *Problemy osobo opasnykh infektsiy = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2009, iss. 99, pp. 50–51. (In Russ.)]
3. Книрель Ю.А., Анисимов А.П. Липополисахарид чумного микроба *Yersinia pestis*: структура, генетика, биологические свойства // Acta naturae. 2012. Т. 4, № 3 (14). С. 49–61. [Knirel Y.A., Anisimov A.P. Lipopolysaccharide of *Yersinia pestis*, the cause of plague: structure, genetics, biological properties. *Acta naturae*, 2012, vol. 4, no. 3 (14), pp. 49–61. (In Russ.)]
4. Инфекции и воспаления в урологии. Под ред. Глыбочко П.В., Коган М.И., Набока Ю.Л. М.: Медфорум, 2019. 888 с. [Infections and inflammations in urology. Eds. Glybochko P.V., Kogan M.I., Naboka Yu.L. Moscow: Medforum, 2019. 888 p. (In Russ.)]
5. Мавзютов А.Р., Бондаренко К.Р., Еникеев А.Н., Бондаренко В.М. Системная эндотоксинемия как патогенетический фактор осложнения беременности // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2012. № 5. С. 16–21. [Mavzyutov A.R., Bondarenko K.R., Enikeev A.N., Bondarenko V.M. System endotoxemia as a pathogenetic factor of the complications of pregnancy. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2012, vol. 5, pp. 16–21. (In Russ.)]
6. Мавзютов А.Р., Князева О.А., Гарафутдинов Р.Р., Габдрахманова А.Р. Влияние липополисахарида *Escherichia coli* на фагоцитарную и метаболическую активность нейтрофилов крови мышей с индуцированным иммунодефицитом // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2017. № 3. С. 84–90. [Mavzyutov A.R., Knyazeva O.A., Garafutdinov R.R., Gabdrakhmanova A.R. Effect of lipopolysaccharide of *Escherichia coli* on phagocyte and metabolic activity of mice blood neutrophils with induced immune deficiency. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2017, vol. 3, pp. 84–90. (In Russ.)]
7. Мавзютова Г.А., Фазлыева Р.М., Мавзютов А.Р., Хайруллина Р.М., Акбашева А.О., Кузовкина О.З. Состояние антиэндотоксиновой защиты при внебольничной пневмонии // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2010. № 4. С. 65–71. [Mavzyutova G.A., Fazlyeva R.M., Mavzyutov A.R., Khairullina R.M., Kuzovkina O.Z. The state of anti-endotoxine defence in the Community acquired pneumonia. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2010, vol. 4, pp. 65–71. (In Russ.)]
8. Машков О.И., Гарафутдинов Р.Р., Мавзютов А.Р. Выделение препаративных количеств липополисахаридов *E. coli* методом жидкостной колоночной хроматографии // Вестник Башкирского университета. 2017. Вып. 22, № 2. С. 351–355. [Mashkov O.I., Garafutdinov R.R., Mavzyutov A.R. Preparative extraction of *E. coli* lipopolysaccharide by liquid column chromatography. *Vestnik Bashkirskogo universiteta = Bulletin of Bashkir University*, 2017, vol. 22, no. 2, pp. 351–355. (In Russ.)]
9. Салахов И.М., Аниховская И.А., Майский И.А., Маркелова М.М., Окорок П.Л., Хасанова Г.Р., Юркив В.А. Нормативные показатели системной эндотоксинемии как базисный элемент определения роли липополисахаридов кишечной микрофлоры в общей патологии // Патогенез. 2015. Вып. 13, № 1. С. 18–27. [Salakhov I.M., Anihovskaya I.A., Maysky I.A., Markelova M.M., Okorokov P.L., Hasanova G.R., Jurkiv V.A. The normative data of systemic endotoxemia as the basic element of role definition of lipopolysaccharides of gut organisms in general pathology. *Patogenez = Pathogenesis*, 2015, iss. 13, no. 1, pp. 18–27. (In Russ.)]
10. Aldapa-Vega G., Pastelín-Palacios R., Isibasi A., Moreno-Eutimio M.A., López-Macias C. Modulation of immune response by bacterial lipopolysaccharides. *Rev. Alerg. Mex.*, 2016, vol. 63, no. 3, pp. 293–302. doi: 10.29262/ram.v63i3.207
11. Cohen J., Vincent J.L., Adhikari N.K., Machado F.R., Angus D.C., Calandra T., Jaton K., Giulieri S., Delaloye J., Opal S., Tracey K., van der Poll T., Pelfrene E. Sepsis: a roadmap for future research. *Lancet Infect. Dis.*, 2015, vol. 15, no. 5, pp. 581–614. doi: 10.1016/S1473-3099(15)70112-X
12. Copeland S., Warren H.S., Lowry S.F., Calvano S.E., Remick D. Acute inflammatory response to endotoxin in mice and humans. Inflammation and the host response to injury investigators. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 2005, vol. 12, no. 1, pp. 60–67. doi: 10.1128/CDDI.12.1.60-67.2005
13. Geddes B.A., Oresnik I.J. Physiology, genetics, and biochemistry of carbon metabolism in the alphaproteobacterium *Sinorhizobium meliloti*. *Can. J. Microbiol.*, 2014, vol. 60, no. 8, pp. 491–507. doi: 10.1139/cjm-2014-0306
14. Grasselli C., Ferrari D., Zalfa C., Soncini M., Mazzocchi G., Facchini F.A., Marongiu L., Granucci F., Copetti M., Vescovi A.L., Peri F., De Filippis L. Toll-like receptor 4 modulation influences human neural stem cell proliferation and differentiation. *Cell Death Dis.*, 2018, vol. 9, no. 3: 280. doi: 10.1038/s41419-017-0139-8

15. Vincent J.L., Sakr Y., Sprung C.L., Ranieri V.M., Reinhart K., Gerlach H., Moreno R., Carlet J., Le Gall J.R., Payen D. Sepsis in European intensive care units: results of the SOAP study. Sepsis occurrence in acutely ill patients investigators. *Crit. Care Med.*, 2006, vol. 34, no. 2, pp. 344–353. doi: 10.1097/01.CCM.0000194725.48928.3A
16. Vincent J.L., Rello J., Marshall J., Silva E., Anzueto A., Martin C.D., Moreno R., Lipman J., Gomersall C., Sakr Y., Reinhart K.; EPIC II Group of Investigators. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *JAMA*, 2009, vol. 302, no. 2, pp. 2323–2329. doi:10.1001/jama.2009.1754
17. Wiersinga W.J., van der Poll T. Sepsis: new insights into its pathogenesis and treatment. *Ned. Tijdschr. Geneesk.*, 2010, vol. 154: A1130.

Авторы:

Мавзютов А.Р., д.м.н., профессор, зав. кафедрой фундаментальной и прикладной микробиологии, профессор кафедры лабораторной диагностики ИДПО ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет МЗ РФ, г. Уфа, Россия;

Глазутдинова Л.Р., студентка 4 курса медико-профилактического факультета с отделением биологии ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет МЗ РФ, г. Уфа, Россия;

Саньчиков Д.В., студент 4 курса медико-профилактического факультета с отделением биологии ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет МЗ РФ, г. Уфа, Россия;

Щекин В.С., аспирант кафедры патологической анатомии ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет МЗ РФ, г. Уфа, Россия;

Гарафутдинов Р.Р., зав. лабораторией физико-химических методов анализа биополимеров Института биохимии и генетики УФИЦ РАН, г. Уфа, Россия;

Чижова А.В., ассистент кафедры патологической анатомии ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет МЗ РФ, г. Уфа, Россия;

Габдрахманова А.Р., биолог клинико-диагностической лаборатории ГБУЗ Городская клиническая больница № 13, г. Уфа, Россия.

Authors:

Mavzyutov A.R., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of Fundamental and Applied Microbiology Department, Bashkir State Medical University, Ufa, Russian Federation;

Glazutdinova L.R., 4-year Student, Department of Preventive Medicine and Biology, Bashkir State Medical University, Ufa, Russian Federation;

Sanchokov D.V., 4-year Student, Department of Preventive Medicine and Biology, Bashkir State Medical University, Ufa, Russian Federation;

Shchekin V.S., PhD Student, Department of Pathoanatomy, Bashkir State Medical University, Ufa, Russian Federation;

Garafutdinov R.R., Head of the Laboratory of Physical-Chemical Methods of Analysis of Biopolymers of Institute of Biochemistry and Genetics, Federal Research Center Russian Academy of Sciences, Ufa, Russian Federation;

Chizhova A.V., Assistant Professor, Department of Pathoanatomy, Bashkir State Medical University, Ufa, Russian Federation;

Gabdrakhmanova A.R., Biologist, Clinical Diagnostic Laboratory, City Clinical Hospital No. 13, Ufa, Russian Federation.

Поступила в редакцию 05.07.2019
Отправлена на доработку 26.11.2019
Принята к печати 14.03.2020

Received 05.07.2019
Revision received 26.11.2019
Accepted 14.03.2020

Иллюстрации к статье «Морфометрическая характеристика эффектов фракций липополисахарида *Ensifer meliloti* на паренхиматозные органы лабораторных крыс с вторичным иммунодефицитом» (авторы: А.Р. Мавзютов, Л.Р. Глазутдинова, Д.В. Саньчиков, В.С. Щекин, Р.Р. Гарафутдинов, А.В. Чижова, А.Р. Габдрахманова) (с. 93–100)

Illustrations for the article “Morphometric characteristics of effects induced by *Ensifer meliloti* lipopolysaccharide fractions on parenchymatous organs in laboratory rats with secondary immunodeficiency” (authors: Mavzyutov A.R., Glazutdinova L.R., Sanchokov D.V., Shchekin V.S., Garafutdinov R.R., Chizhova A.V., Gabdrakhmanova A.R.) (pp. 93–100)

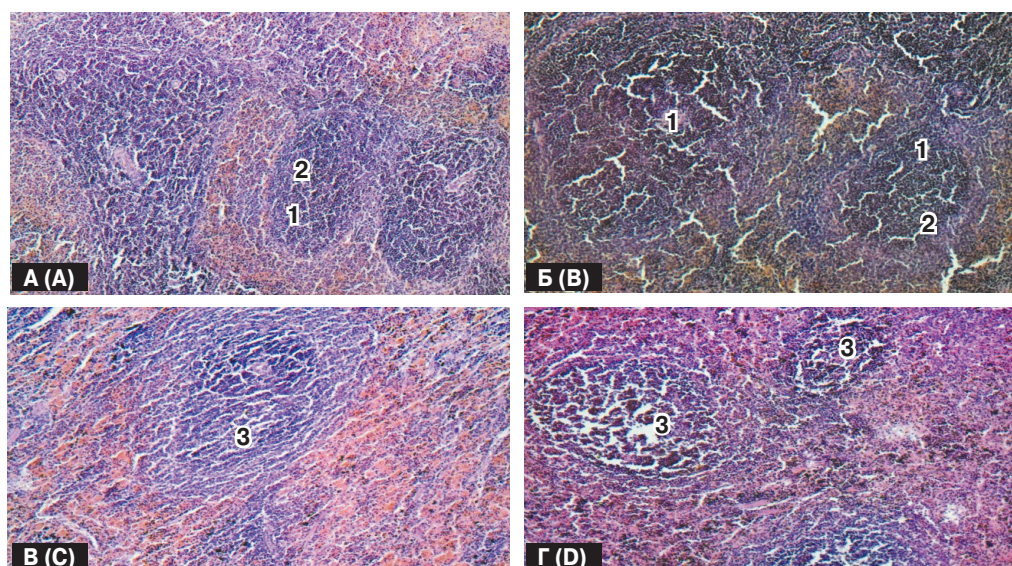


Рисунок 2. Гистологическая картина селезенки

Figure 2. The histological image of the spleen

A — контрольная группа, Б — группа иммунодефицит, В — группа «Ликопид», Г — группа ЛПС. 1 — лимфоидный фолликул, 2 — мантийная зона, 3 — герминативный центр. Световая микроскопия. Увеличение $\times 100$. Окраска: гематоксилин-эозин.
A — control group, B — immunodeficient group, C — Licopid group, D — LPS group. 1 — lymphoid follicle, 2 — mantle zone, 3 — germinal center. Light microscopy. Objective magnification $\times 100$. Staining: HE.

Иллюстрации к статье «Морфометрическая характеристика эффектов фракций липополисахарида *Ensifer meliloti* на паренхиматозные органы лабораторных крыс с вторичным иммунодефицитом» (авторы: А.Р. Мавзютов, Л.Р. Глазутдинова, Д.В. Саньчиков, В.С. Щекин, Р.Р. Гарафутдинов, А.В. Чижова, А.Р. Габдрахманова) (с. 93–100)

Illustrations for the article "Morphometric characteristics of effects induced by *Ensifer meliloti* lipopolysaccharide fractions on parenchymatous organs in laboratory rats with secondary immunodeficiency" (authors: Mavzyutov A.R., Glazutdinova L.R., Sanchokov D.V., Shchekin V.S., Garafutdinov R.R., Chizhova A.V., Gabdrakhmanova A.R.) (pp. 93–100)

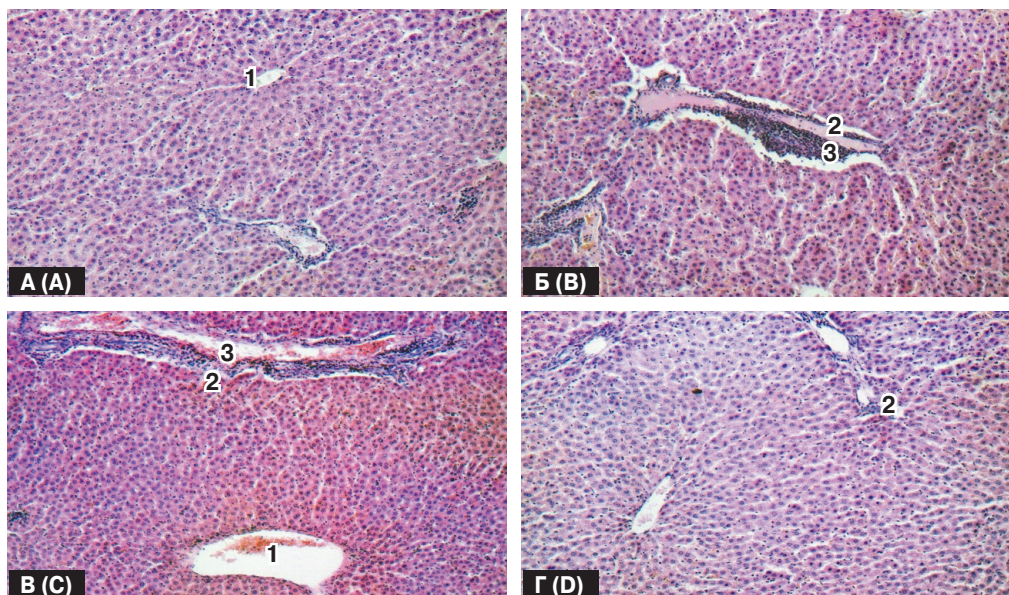


Рисунок 3. Гистологическая картина печени

Figure 3. The histological images of liver

A — контрольная группа, Б — группа иммунодефицит, В — группа «Ликопид», Г — группа ЛПС. 1 — центральная вена долек, 2 — порталный тракт, 3 — лимфоидный инфильтрат. Световая микроскопия. Увеличение $\times 100$.

Окраска: гематоксилин-эозин.

A — control group, B — immunodeficient group, C — Licopid group, D — LPS group. 1 — central vein of liver, 2 — portal area, 3 — lymphoid infiltration. Light microscopy. Objective magnification $\times 100$. Staining: HE.

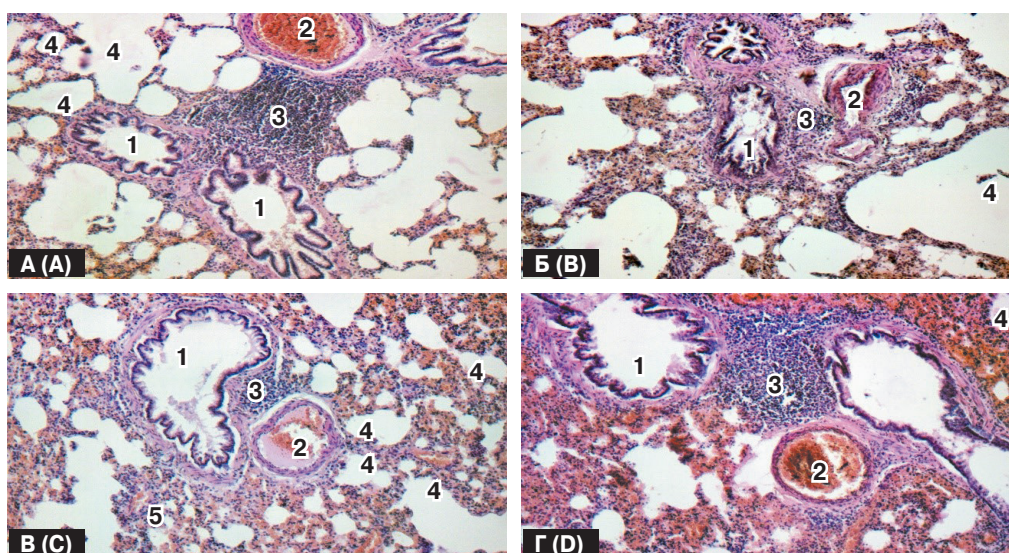


Рисунок 4. Гистологическая картина легких

Figure 4. The histological images of lungs

A — контрольная группа, Б — группа иммунодефицит, В — группа «Ликопид», Г — группа ЛПС. 1 — бронх, 2 — артерия, 3 — мантийная зона, 4 — альвеолы, 5 — межальвеолярные перегородки. Световая микроскопия. Увеличение $\times 100$.

Окраска: гематоксилин-эозин.

A — control group, B — immunodeficient group, C — Licopid group, D — LPS group. 1 — bronchus, 2 — arteria, 3 — mantle zone, 4 — alveoli, 5 — interalveolar septum. Light microscopy. Objective magnification $\times 100$. Staining: HE.