

# Гистологические исследования слизистой оболочки тонкой кишки крысы при воздействии эндотоксина и пробиотических бактерий

О.В. Рыбальченко<sup>1,2</sup>, О.Г. Орлова<sup>1,2</sup>, Е.Д. Королькова<sup>1</sup>, А.Ю. Фонтуренко<sup>1</sup>, В.В. Капустина<sup>1,3</sup>, О.Н. Вишневецкая<sup>1</sup>, Е.Г. Кошечкина<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет; <sup>2</sup>Гос. НИИ ОЧБ ФМБА России; <sup>3</sup>Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

Желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) представляет собой сложную микробную экосистему, состоящую из 500–1500 видов микроорганизмов, структура которой остается относительно стабильной на протяжении всей жизни макроорганизма, несмотря на постоянные изменения, связанные с образом жизни, диетой, возрастом, физиологическими и иммунологическими особенностями организма-хозяина [1, 2].

Более 90% микроорганизмов ЖКТ принадлежат к филумам *Firmicutes* и *Bacteroidetes*, в меньшей степени представлены филы *Actinobacteria* и *Proteobacteria*. Виды рода *Bacteroides* составляют около 30% от всех бактерий микробиома человека, тогда как достаточно хорошо известное семейство *Enterobacteriaceae*, которое содержит значимые с медицинской точки зрения роды, такие как *Escherichia*, *Klebsiella* и *Salmonella*, представляют менее 1% [3, 4, 5].

В последние годы наблюдается все возрастающий интерес к микробиоте кишечника человека, участвующей как на начальных стадиях заболевания, так и в его развитии, а также в период возникновения возможных осложнений [6, 7].

В норме эпителий кишечника выполняет барьерную функцию между просветными микроорганизмами и тканями самого организма-хозяина. Слизистая оболочка кишечника с плотными контактами (ТТ) в эпителиальных клетках образуют слой, препятствующий свободному транспорту бактерий и их метаболитов [8]. Слизь, продуцируемая кишечными бокаловидными клетками, образует мощный слой на поверхности эпителия, который предотвращает проникновение компонентов химуса и бактерий. Слизистые наслоения включают иммуноглобулин А, способный нейтрализовать токсины и микроорганизмы, предотвращая их адгезию и колонизацию [9, 10]. Секретция желчных кислот также играет важную роль в регуляции проницаемости кишечника, влияя на слизистую оболочку кишечника и нейтрализуя эндотоксины [8].

Нарушение барьерной функции приводит к бактериальной транслокации: проникновению бактериальных клеток или их факторов патогенности (например, бактериальных липополисахаридов (LPS) или пептидогликана) в системный кровоток. Вследствие этого развивается системный синдром воспалительного ответа (SIRS), что может привести к множественной органной недостаточности или даже летальному исходу. Исследования показали, что у 11% пациентов, которым проводили хирургическую операцию с открытым доступом, наблюдали транслокацию живых бактерий в брыжеечные лимфатические узлы или серозную стенку кишечника [11, 12].

Процесс транслокации бактерий и их производных приводит к еще большему ослаблению барьерной функции эпителия, вызывая дальнейшее расстройство целостности слизистой оболочки и иммунной системы кишечника. Об этом свидетельствует повышенный уровень провоспалительных цито-

кинов интерлейкин (IL-6 и IL-12), фактор некроза опухоли- $\alpha$  (TNF), интерферон- $\gamma$  (IFN) и эффекторных молекул NO [13].

## Цель

Выявление морфологических изменений слизистой оболочки тощей кишки крыс при одновременном введении в просвет кишечника эндотоксина в комплексе с пробиотическими бактериями *Lactobacillus plantarum* 8 PA-3 и *Escherichia coli* M17.

## Материалы и методы

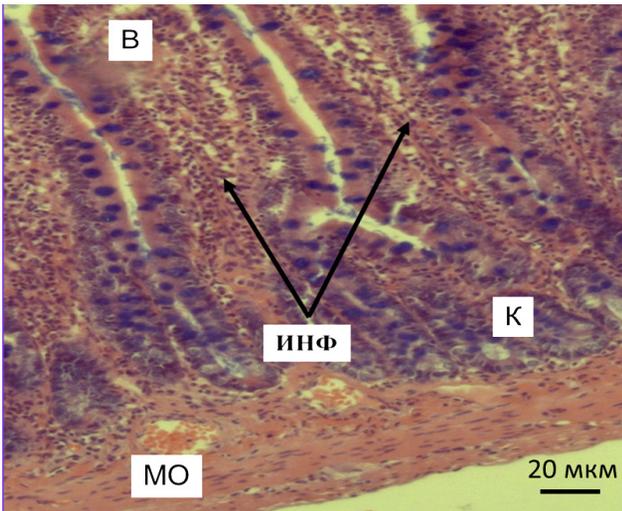
Исследование проводили на крысах-самцах линии Wistar после введения животным наркоза – золотила (50 мг/кг). Воздействие эндотоксина Lipopolysaccharides из *Escherichia coli* 0111:B4 (Sigma-Aldrich, Германия) (20 мкг/мл) и пробиотических бактерий *Lactobacillus plantarum* 8-PA3 и *E.coli* M17 ( $10^8$  КОЕ/мл) на эпителиоциты осуществляли методом выведения сегментов тощей кишки крыс с последующей инкубацией в течение 2 часов. В контрольной группе в просвет тощей кишки крыс вводили физиологический раствор. Экспериментальные процедуры проводили в соответствии со всеми современными стандартами Этического комитета и требованиями биоэтических норм по работе с экспериментальными животными.

Через 2 часа инкубации с вышеуказанными растворами и суспензиями сегменты тощей кишки крыс помещали в фиксатор для гистологического исследования. Материал обрабатывали в формалине и фиксирующей смеси СФУ (спирт, формалин, уксусная кислота). Затем на микротоме Leica SM2000 R (Leica Biosystems, Германия) получали полутонкие срезы, которые после окрашивания гематоксилином, эозином и альциановым синим просматривали в световом микроскопе Leica DM6000 B (Leica Microsystems, Германия).

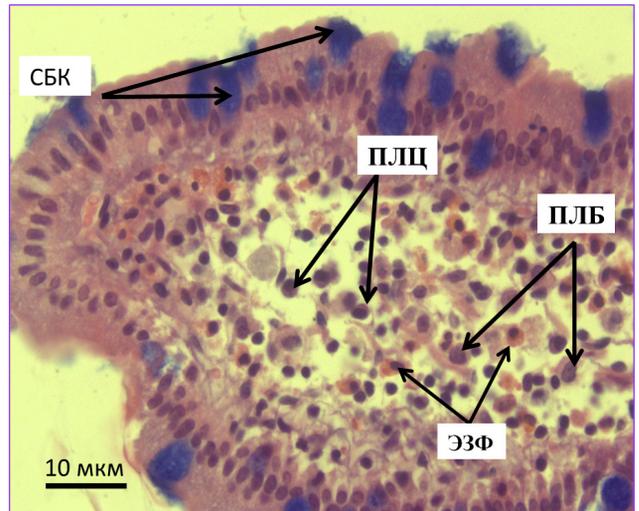
## Результаты

Контрольные образцы слизистой оболочки тощей кишки крыс включали клетки, покрытые длинными ворсинками, плотно прилегающими друг к другу. Отношение высоты ворсинок к глубине крипты составляло 2,5:1. В собственной пластинке слизистой оболочки тощей кишки содержалось значительное число плазматических клеток и лимфоцитов (с преобладанием плазматических). В области крипт обнаруживались скопления палочкоядерных нейтрофилов и эозинофилов, а в области ворсинок – плазмобластов и плазматических (рис. 1, рис. 2). Яркое окрашивание секрета бокаловидных клеток альциановым синим при pH=2,2–2,5 свидетельствовало о преобладании в них кислых полисахаридов.

При введении в просвет тощей кишки суспензии *E.coli* M17 в концентрации  $3,5 \times 10^8$  КОЕ/мл наблюдали изменение формы ворсинок, которое выражалось в незначительном укорочении и расширении ворсинок (2,1:1). Одновременно с этим



**Рис. 1.** Гистологический срез стенки тощей кишки крысы, контроль: инфильтрация собственной пластинки (ИНФ), ворсинки (В), крипты (К), мышечная оболочка (МО). Окраска гематоксилин-эозин, альциановый синий. Увеличение  $\times 100$ .



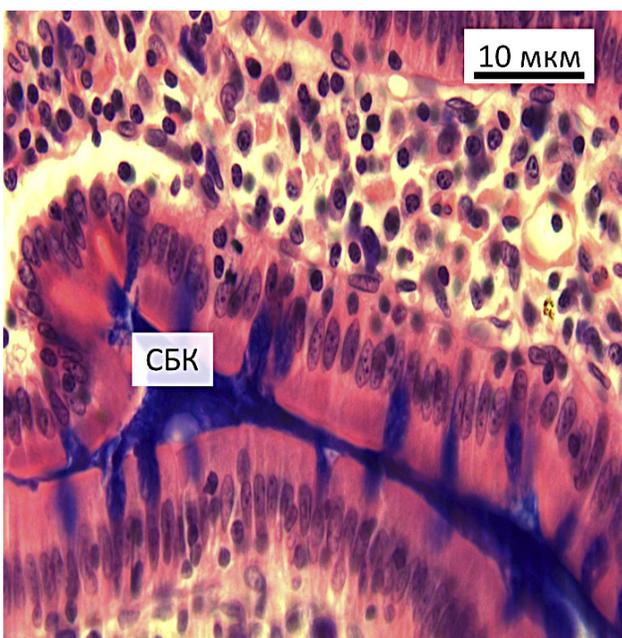
**Рис. 2.** Гистологический срез апикальной части ворсинки тощей кишки крысы, контроль: плазмоциты (ПЛЦ), секрет бокаловидных клеток (СБК), плазмобласты (ПЛБ), эозинофилы (ЭЗФ). Окраска гематоксилин-эозин, альциановый синий. Увеличение  $\times 400$ .

обнаружено изменение морфологических свойств слизистой оболочки тощей кишки, что выражалось в переорганизации клеточного состава, ведущей к лейкоцитарной инфильтрации собственной пластинки и повышению содержания эозинофилов. Наряду с указанными выше изменениями, введение бактериальных клеток *E. coli* M17 в просвет тощей кишки вызывало значительный выброс секрета бокаловидных клеток (рис.3).

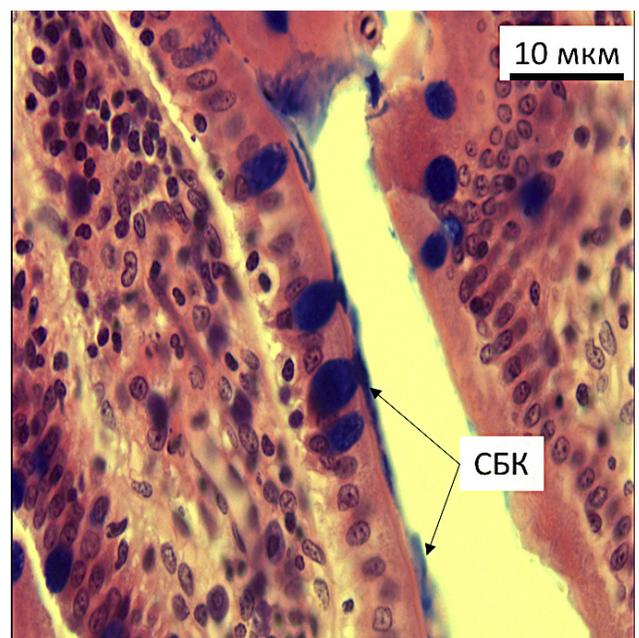
Присутствие в просвете тощей кишки крысы суспензии пробиотических бактерий *L. plantarum* 8РА-3 в концентрации  $5,2 \times 10^8$  КОЕ/мл практически не влияло на морфологические свойства ворсинок. Отношение высоты ворсинок к глубине крипты соответствовало контрольным показателям. При этом в собственной пластинке слизистой оболочки тощей кишки обнаруживались плазматические клетки и плазмоциты, в области

крипт – нейтрофилы и эозинофилы, аналогично контрольным образцам. В отличие от образцов с бактериальной суспензией *E. coli* M17 выброс секрета бокаловидных клеток в присутствии клеток *L. plantarum* 8 РА-3 выражен не был (рис. 4).

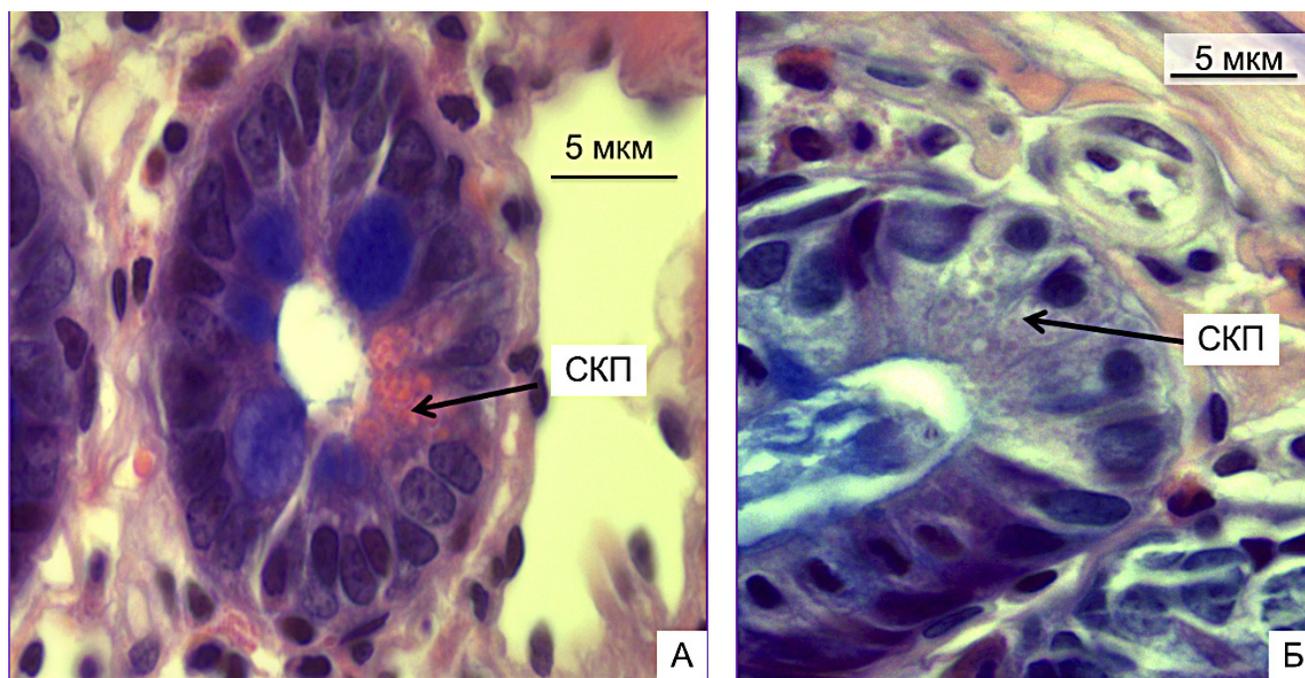
В присутствии в просвете тощей кишки крысы эндотоксина (ЛПС) в концентрации 20 мкг/мл можно было отметить появление атрофических изменений, затрагивающих структуру ворсинок, которые частично утолщались или укорачивались, а в отдельных случаях соединялись между собой. При этом соотношение высоты ворсинок к глубине крипты составляло 1,5:1. Число бокаловидных клеток не изменялось. Собственная пластинка слизистой оболочки кишки на уровне ворсинок была диффузно инфильтрирована лимфоцитами, плазматическими и эозинофилами.



**Рис. 3.** Гистологический срез участка тощей кишки крысы в присутствии клеток *E. coli* M17: выброс секрета бокаловидных клеток (СБК) Окраска гематоксилин-эозин, альциановый синий. Увеличение  $\times 400$ .



**Рис. 4.** Гистологический срез участка тощей кишки крысы в присутствии клеток *L. plantarum* 8 РА-3: выброс секрета бокаловидных клеток (СБК). Окраска гематоксилин-эозин, альциановый синий. Увеличение  $\times 400$ .



**Рис. 5.** Гистологический срез крипты. А. При введении в просвет тощей кишки крысы *L.plantarum* 8-РА3 и эндотоксина: секрет клеток Паннета (СКП). Б. При введении в просвет тощей кишки крысы физиологического раствора. Окраска гематоксилин-эозин, аляциановый синий. Увеличение  $\times 1000$ .

При инкубации тощей кишки крысы с комплексом эндотоксина (ЛПС) и суспензии бактерий (*L.plantarum* 8 РА-3 или *E.coli* M17) отмечали увеличение проницаемости слизистых оболочек кишечника и стимуляцию обильной секреции слизи. При этом воздействие комплекса ЛПС и *E.coli* M17 приводило к значительному увеличению выброса секрета из бокаловидных клеток и усилению секреции лизоцима клетками Паннета. Одновременно с вышеуказанными изменениями происходило увеличение числа митозов в клетках слизистой оболочки крипт.

В случае контакта эпителиоцитов с клетками пробиотических бактерий *L.plantarum* 8РА-3 подобная реакция на воздействие ЛПС была менее выраженной. Следует отметить, что секрет клеток Паннета достаточно слабо окрашивался эозином, за исключением образцов, где в просвет кишки вводили смесь клеток *L.plantarum* 8-РА3 и эндотоксина (рис. 5).

### Обсуждение

Естественный процесс разрушения и гибели грамотрицательных бактерий, в том числе представителей нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта, является причиной высвобождения отдельных фрагментов клеточных стенок – эндотоксинов (ЛПС), которые способны оказывать токсическое воздействие на макроорганизм, индуцируя, например, синтез цитокинов и других медиаторов воспаления. До настоящего времени влияние эндотоксина на структуру эпителия тощей кишки при этих воздействиях исследованию практически не подвергалось.

Полученные в данном исследовании результаты свидетельствуют об изменении морфологических свойств клеток слизистой оболочки тощей кишки крыс в присутствии ЛПС. К наиболее значимым можно отнести атрофические изменения структуры ворсинок, приводящие к утолщению, укорачиванию и сращиванию их между собой. Наблюдаемые изменения морфологических свойств ворсинок эпителиоцитов аналогичны описанию в работе группы исследователей Ruan

с соавт. (2013) [14], где показано, что воздействие ЛПС на тощую кишку крыс приводило к изменению соотношения длины и ширины ворсинок и дальнейшему увеличению проницаемости слизистой оболочки тонкой кишки.

Результаты, полученные в работе Nan с соавт. (2009) [15], также свидетельствуют о негативном действии эндотоксина на морфологические характеристики ворсинок и отсутствие визуальных изменений в их морфологии при добавлении лактобактерий. Однако в этой работе авторы не обсуждают результаты сочетанного воздействия эндотоксина и лактобактерий. Полученные нами данные гистологических исследований свидетельствуют, что при введении в просвет тощей кишки крысы ЛПС в комплексе с суспензией клеток *L.plantarum* 8-РА3 лактобактерии нивелируют действие эндотоксина.

Кроме того, методом световой микроскопии установлено, что инкубация тощей кишки крыс с ЛПС в комплексе с клетками *E.coli* M17 в течение 2-х часов стимулировала обильную секрецию слизи. Wang с соавт. [16], утверждают, что увеличение числа бокаловидных клеток и соответственно вырабатываемой ими слизи можно расценивать как особый защитный механизм при различного рода патологиях пищеварительного тракта.

Таким образом, на гистологическом уровне показано защитное воздействие клеток *E.coli* M17 на эпителиоциты тощей кишки крыс при токсическом воздействии ЛПС, что выражается в стимуляции активности бокаловидных клеток и образовании слизи. При этом определить механизм более ярко выраженного защитного воздействия клеточной суспензии пробиотических лактобактерий *L.plantarum* 8-РА3 на слизистую оболочку тощей кишки крыс, используя гистологический метод, не удавалось.

Многочисленные работы различных авторов свидетельствуют о способности пробиотических бактерий ингибировать или снижать число патогенных микроорганизмов, а также нейтрализовать действие их метаболитов [17, 18, 19]. Однако ощущается недостаточность данных и необходимость проведения дальнейших исследований для выявления наилучшего способа нейтрализации воздействия ЛПС путем назначения

лекарственных препаратов, стабилизирующих структуру нормальной микробиоты, а также определения группы пациентов, для которых пробиотикотерапия могла бы быть наиболее оптимальным способом ее коррекции [20].

### Заключение

Таким образом, анализ гистологических препаратов показал, что повышение концентрации ЛПС и добавление в просвет тощей кишки крыс бактериальной суспензии *E.coli* M17 (модель неконтролируемого роста грамотрицательных бактерий) приводят к увеличению секреции слизи бокаловидными клетками. При наличии лактобактерий (на модели развития пробиотических бактерий на слизистых оболочках) это явление менее выражено. Морфологические свойства слизистой оболочки тощей кишки крыс в значительной степени отражают изменение иммунных, метаболических и регуляторных функций макроорганизма, ассоциированных с определенным состоянием микробиоты.

### Выводы

1. Показано, что инкубация тощей кишки крысы с ЛПС (20 мкг/мл) и бактериями в течение 2-х часов стимулировала обильную секрецию слизи бокаловидными клетками.
2. Установлено, что при одновременном введении в просвет тощей кишки крысы ЛПС с условно патогенными бактериями *E.coli* M17 увеличивался выброс секрета из бокаловидных клеток и усиливалась секреция лизоцима клетками Паннета.
3. При одновременном введении в просвет тощей кишки крысы комплекса ЛПС с пробиотическими бактериями *L.plantarum* 8RA-3 аналогичная реакция на ЛПС проявлялась в гораздо меньшей степени.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Claesson M.J., Jeffery I.B., Conde S. et al. Gut microbiota composition correlates with diet and health in the elderly. *Nature*. 2012; 488: 178–184.
2. Kotzampassi K., Giamarellos-Bourboulis E.J. Probiotics for infectious diseases: more drugs, less dietary supplementation. *Int J Antimicrob Agents*. 2012; 40: 288–296.
3. Morowitz M.J., Babrowski T., Carlisle E.M. et al. The human microbiome and surgical disease. *Ann Surg*. 2011; 253: 1094–1101.
4. Khanna S., Tosh P.K. A clinician's primer on the role of the microbiome in human health and disease. *Mayo Clin Proc*. 2014; 89: 107–114.
5. Linares D.M., Ross P., Stanton C. Beneficial microbes: The pharmacy in the gut. *Bioengineered*. 2016; 7: 11–20.
6. Shimizu K., Ogura H., Hamasaki T. et al. Altered gut flora are associated with septic complications and death in critically ill patients with systemic inflammatory response syndrome. *Dig Dis Sci*. 2011; 56: 1171–1177.
7. Zaborin A., Smith D., Garfield K. et al. Membership and behavior of ultra-low-diversity pathogen communities present in the gut of humans during prolonged critical illness. *MBio*. 2014; 5: e01361-e01414.
8. Eleftheriadis E., Kotzampassi K., Papanotas K., Heliadis N., Sarris K. Gut ischemia, oxidative stress, and bacterial translocation in elevated abdominal pressure in rats. *World J Surg*. 1996; 20: 11–16.
9. Shimizu K., Ogura H., Goto M. et al. Altered gut flora and environment in patients with severe SIRS. *J Trauma*. 2006; 60: 126–133.
10. Strocchi A., Bond J.H., Ellis C., Levitt M.D. Colonic concentrations of hydrogen and methane following colonoscopic preparation with an oral lavage solution. *Gastrointest Endosc*. 1990; 36: 580–582.
11. Alverdy J., Holbrook C., Rocha F. et al. Gut-derived sepsis occurs when the right pathogen with the right virulence genes meets the right host: evidence for in vivo virulence expression in *Pseudomonas aeruginosa*. *Ann Surg*. 2000; 232: 480–489.
12. Rasid O., Cavaillon J.M. Recent developments in severe sepsis research: from bench to bedside and back. *Future Microbiol*. 2016; 11: 293–314.
13. Macfarlane S. Antibiotic treatments and microbes in the gut. *Environ Microbiol*. 2014; 16: 919–924.
14. Ruan Z., Liu S., Zhou Y., Mi S., Liu G. et al. Chlorogenic Acid Decreases Intestinal Permeability and Increases Expression of Intestinal Tight Junction Proteins in Weaned Rats Challenged with LPS. *PLoS ONE*. 2014; 9 (6): e97815. doi:10.1371/journal.pone.0097815.
15. Li N., Russell W.M., Douglas-Escobar M., Hauser N., Lopez M., Neu J. Live and Heat-Killed *Lactobacillus rhamnosus* GG: Effects on Proinflammatory and Anti-Inflammatory Cytokines, Chemokines in Gastrostomy-Fed Infant Rats. *Pediatric Research*. 2009; 66: 203–207. doi:10.1203/PDR.0b013e3181aabd4f.
16. Wang Li, Li J., Li Q. et al. Morphological changes of cell proliferation and apoptosis in rat jejunal mucosa at different ages. *World J Gastroenterol*. 2003; 9 (9): 2060–2064.
17. Siempos I.I., Ntaidou T.K., Falagas M.E. Impact of the administration of probiotics on the incidence of ventilator-associated pneumonia: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Crit Care Med*. 2010; 38: 954–962.
18. Barraud D., Bollaert P.E., Gibot S. Impact of the administration of probiotics on mortality in critically ill adult patients: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Chest*. 2013; 143: 646–655.
19. Wang J., Liu K.X., Ariani F., Tao L.L., Zhang J., Qu J.M. Probiotics for preventing ventilator-associated pneumonia: a systematic review and meta-analysis of high-quality randomized controlled trials. *PLoS One*. 2013; 8: e83934.
20. Nosratola D. Vaziri et al. Altered intestinal microbial ora and impaired epithelial barrier structure and function in CKD: the nature, mechanisms, consequences and potential treatment. *Nephrol. Dial. Transplant*. 2015; 0: 1–10.

### Аннотация

В настоящее время возросший интерес к микробиоте кишечника человека связывают с ее участием в инициации начальных стадий заболевания и возникновении хронических форм осложнений. В норме эпителий кишечника выполняет барьерную функцию. Белки плотных контактов и мощный слой слизи на поверхности эпителия позволяют контролировать проницаемость бактерий и их метаболитов и препятствуют их свободному транспорту. Нарушение барьерной функции приводит к транслокации бактерий и факторов патогенности в системный кровоток, что может привести к множественной органной недостаточности. Имеющиеся в настоящее время данные о воздействии факторов патогенности на транслокацию живых бактерий не позволяют оценить влияние эндотоксина на проницаемость слизистой оболочки при усилении роли грамотрицательных бактерий на развитие кишечных дисфункций.

**Целью** исследования являлся анализ выявления морфологических изменений слизистой оболочки тонкой кишки крыс при одновременном введении в просвет кишки эндотоксина в комплексе с пробиотическими бактериями *Lactobacillus plantarum* 8 PA-3 и *Escherichia coli* M17.

**Материалы и методы.** Исследование проводили на самцах крыс линии Wistar, в просвет тонкой кишки вводили пробиотические бактерии *Lactobacillus plantarum* 8-PA3 and *Escherichia coli* M17 ( $10^8$  КОЕ/мл) и липополисахариды (20 мкг/мл). Препараты тонкой кишки исследовали гистологическими методами.

**Результаты.** Анализ гистологических образцов показал, что увеличение концентрации ЛПС до 20 мкг/мл и бактериальной суспензии *E.coli* M17 в просвете кишки приводит к повышению секреции слизи бокаловидными клетками и лизоцима клетками Паннета. При добавлении лактобактерий эти процессы проявлялись менее выражено.

**Выводы.** Установлено, что при одновременном введении в просвет тонкой кишки ЛПС с *E.coli* M17 и ЛПС с *L.plantarum* 8RA-3 происходит нейтрализация воздействия эндотоксина,

однако механизмы, включенные в эти процессы, в каждом случае значительно отличаются.

**Данные об авторах:**

**Рыбальченко Оксана Владимировна**, д.б.н., профессор каф. физиологии медицинского факультета СПбГУ, 21 линия, д. 8а, В.О., Санкт-Петербург, 199106, Россия; заведующая лабораторией морфофизиологии микроорганизмов Гос НИИ «Особо чистых биопрепаратов»; ул. Пудожская, д. 7, Санкт-Петербург, 197110, Россия;

**Орлова Ольга Геннадьевна**, к.б.н., ст. преподаватель каф. физиологии медицинского факультета СПбГУ, 21 линия, д. 8а, В.О., Санкт-Петербург, 199106, Россия; ст. научный сотрудник лаборатории морфофизиологии микроорганизмов Гос НИИ «Особо чистых биопрепаратов»; ул. Пудожская, д. 7, Санкт-Петербург, 197110, Россия;

**Королькова Елена Дмитриевна**, к.б.н., ст. преподаватель кафедры цитологии и гистологии биологического факультета СПбГУ; Университетская наб., д. 7/9, Санкт-Петербург, 197101, Россия;

**Фонтуренко Александра Юрьевна**, студентка 6 курса медицинского факультета СПбГУ; 21 линия, д. 8а, В.О., Санкт-Петербург, 199106, Россия;

**Капустина Валентина Викторовна**, зав. лабораторией медицинского факультета СПбГУ; 21 линия, д. 8а, В.О., Санкт-Петербург, 199106,

Россия; аспирант лаборатории биомедицинской микробиологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»; ул. Академика Павлова, д. 12, Санкт-Петербург, 197376, Россия;

**Вишневская Ольга Николаевна**, аспирантка каф. физиологии биологического факультета СПбГУ; Университетская наб., д. 7/9, Санкт-Петербург, 197101, Россия;

**Кошечкина Евгения Григорьевна**, студентка 6 курса медицинского факультета СПбГУ; 21 линия, д. 8а, В.О., Санкт-Петербург, 199106, Россия.

**Для контактов:**

Рыбальченко Оксана Владимировна, e-mail: OVR@inbox.ru.

**Как цитировать:**

*Рыбальченко О.В., Орлова О.Г., Королькова Е.Д., Фонтуренко А.Ю., Капустина В.В., Вишневская О.Н., Кошечкина Е.Г.* Гистологические исследования слизистой оболочки тонкой кишки крысы при воздействии эндотоксина и пробиотических бактерий. Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. 2018; (2):32–37.

**Конфликт интересов:**

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Информация об источниках финансирования**

Исследование выполнено при поддержке гранта СПбГУ 0.37.218.2016.

Received 16.01.2018

# Histological research of the small intestine mucous membrane of rat under the influence of endotoxin and probiotic bacteria

O.V. Rybalchenko<sup>1,2</sup>, O.G. Orlova<sup>1,2</sup>, E.D. Korolkova<sup>1</sup>, A.Yu. Fonturenko<sup>1</sup>, V.V. Kapustina<sup>1,3</sup>, O.N. Vishnevskaya<sup>1</sup>, Ye.G. Koshevaya<sup>1</sup><sup>1</sup>Saint-Petersburg State University; <sup>2</sup> State Research Institute of Highly Pure Biopreparations; <sup>3</sup>Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia

## Abstract

The increased interest in the microbiota of the human intestine is associated with her involvement in initiating the initial stages of the disease and the occurrence of chronic forms of complications. Normally, the intestinal epithelium fulfills the barrier function, which allows to control the permeability of bacteria and their metabolites, thanks to the work of a whole complex of mechanisms that impede free transport: tight-contact proteins and a thick layer of mucus on the epithelium surface. Violation of the barrier function leads to translocation of bacteria and pathogenicity factors into the systemic bloodstream, which can lead to multiple organ failure. Currently available data on the effect of pathogenicity factors on the translocation of living bacteria does not allow to evaluate the effect of endotoxin on the permeability of the mucous membrane with the increased role of Gram-negative bacteria on the development of intestinal dysfunctions. In this connection, the aim of the study was to analyze the detection of morphological changes in the mucous membrane of the small intestine of rats with simultaneous introduction of endotoxin into the lumen of the intestine in combination with the probiotic bacteria *Lactobacillus plantarum* 8 PA-3 and *Escherichia coli* M17.

**The aim** of the study was to identify morphological changes in the mucosa of the jejunum of rats with simultaneous introduction of endotoxin in the intestinal lumen in a complex with probiotic bacteria.

**Materials and methods.** The study was carried out on male Wistar rats. Probiotic bacteria *Lactobacillus plantarum* 8-PA3 and *E.coli* M17 ( $10^8$  CFU/ml) and lipopolysaccharide (LPS) (20 mg/ml) were injected into the lumen of the jejunum of rats. The results of the exposure were assessed using histological methods.

**Results.** Analysis of histological specimens showed that increasing the concentration of LPS and adding to the lumen of the jejunum of rats a bacterial suspension of *E.coli* M17 resulted in an increase in the secretion of mucus by goblet cells and increased secretion of lysozyme by Paneth cells. In the presence of lactobacilli, this phenomenon is less pronounced.

**Conclusions.** It was found the neutralization effect of the LPS, during co-introduction of LPS with *E. coli* M17 and *L.plantarum* 8RA-3 into the lumen, however, the involved mechanisms are different.

## References

Presented above

## Authors:

**Rybalchenko Oksana V.**, DSc, Professor of the Department of Physiology of the medical faculty of St. Petersburg State University; 8a 21 line, V.O., St. Petersburg, 199106, Russia; Head of the Laboratory of Morphophysiology of microorganisms of the State Research Institute of Highly Pure Biopreparations; 7 Pudozhskaya str., St. Petersburg, 197110, Russia;

**Orlova Olga G.**, PhD., Senior Lecturer of the of the Department of Physiology of the medical faculty of St. Petersburg State University; 8a 21 line, V.O., St. Petersburg, 199106, Russia; Senior Researcher of the Laboratory of Morphophysiology of microorganisms of the State Research Institute of Highly Pure Biopreparations; 7 Pudozhskaya str., St. Petersburg, 197110, Russia;

**Korolkova Elena D.**, PhD., Senior Lecturer of the Department of Cytology and Histology, Biological Faculty, St. Petersburg State University; 7/9 Universitetskaya emb., St. Petersburg, 197101, Russia;

**Fonturenko Alexandra Yu.**, 6th year student of the medical faculty of St. Petersburg State University; 8a 21 line, V.O., St. Petersburg, 199106, Russia;

**Kapustina Valentina V.**, Head of the Laboratory of the medical faculty of St. Petersburg State University; 8a 21 line, V.O., St. Petersburg, 199106, Russia; post-graduate student in the Laboratory of Biomedical Microecology of the Institute of Experimental Medicine; 12 Academician Pavlova str., St. Petersburg, 197376, Russia;

**Vishnevskaya Olga N.**, post-graduate student of the Department. Physiology of the biological faculty of St. Petersburg State University; 7/9 Universitetskaya emb., St. Petersburg, 197101, Russia;

**Kosheva Evgenia G.**, 6th year student of the Medical Faculty of St. Petersburg State University; 8a 21 line, V.O., St. Petersburg, 199106, Russia.

## Corresponding author:

Rybalchenko Oksana V., e-mail: OVR@inbox.ru.

## Suggested citation for this article:

Rybalchenko O.V., Orlova O.G., Korolkova E.D., Fonturenko A.Yu., Kapustina V.V., Vishnevskaya O.N., Koshevaya Ye.G. Histological research of the small intestine mucous membrane of rat under the influence of endotoxin and probiotic bacteria. Gastroenterologiya Sankt-Peterburga. 2018; (2):32–37.

## Conflicts of Interest:

The authors declare no conflict of interest.

## Funding

The research was supported by the project SPbSU 0.37.218.2016.