

(104)

# Badania histopatologiczne w eksperymentalnym zapaleniu błony naczyniowej

## Histopathologic studies in experimental uveitis

Marta Misiuk-Hojło<sup>1</sup>, Zdzisław Woźniak<sup>2</sup>, Stanisław Szymaniec<sup>3</sup>, Czesław Ługowski<sup>4</sup>, Karolina Agopsowicz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Z Kliniki Okulistyki Akademii Medycznej we Wrocławiu

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Maria Hanna Niżankowska

<sup>2</sup>Z Zakładu Anatomii Patologicznej Akademii Medycznej we Wrocławiu

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Jerzy Rabczyński

<sup>3</sup>Z Zakładu Terapii Doświadczalnej Polskiej Akademii Nauk we Wrocławiu

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Stanisław Szymaniec

<sup>4</sup>Z Zakładu Mikrobiologii Polskiej Akademii Nauk we Wrocławiu

Kierownik: prof. dr hab. Czesław Ługowski

**Summary:** Experimental uveitis is one of the main models in the diseases of autoimmune background. The purpose of this paper was to analyze the quantitative histological changes in the experimental uveitis, induced by different types of homogenous endotoxin salts of *Havnia alvei*. We studied 74 eyes of Lewis rats (males) divided into 4 groups. Each group received a homogenous salt of *Havnia alvei* in a single subcutaneous injection. In the 1 group-LPS Ca<sup>++</sup>, in 2 group-LPS Na<sup>++</sup>, in 3 group-LPS 981, in 4 group physiological salt (control group). The histologic and immunocytochemical examinations were performed after 24, 48 hours, and after 4 and 7 days following the injection. The histologic changes were analyzed (the intensity of inflammatory reaction) using a Highly Optimized Microscope Environment system. The most intensive inflammation was observed in experimental group after 24 hours (in the LPS 981D group in 5 rats out of 6, in LPS Ca<sup>++</sup> group in 3 rats out of 6). After 48 hours the intensity of inflammatory reaction visibly decreased. On the fourth day the inflammation revealed a minimal intensity and after 7 days was practically absent. In the control group minimal inflammation was observed only in a few rats. Ciliary body hyperemia was present for 48 hours in most of the experimental rats. Only a few of them had hyperemia on the fourth day. In the posterior segment minimal inflammation was noted at the end of the first day (I and II – nd group after 24 hours); this process continued until the fourth day, on the 7th day disappeared. **Conclusions:** The most intensive inflammation of the anterior and posterior choroidal segment is caused by homogenous salts of *Havnia alvei* 981.

**Słowa kluczowe:** doświadczalne zapalenie błony naczyniowej, endotoksyna *Havnia alvei*, badania histopatologiczne.

**Key words:** experimental uveitis, *Havnia alvei* endotoxin, histopathologic study.

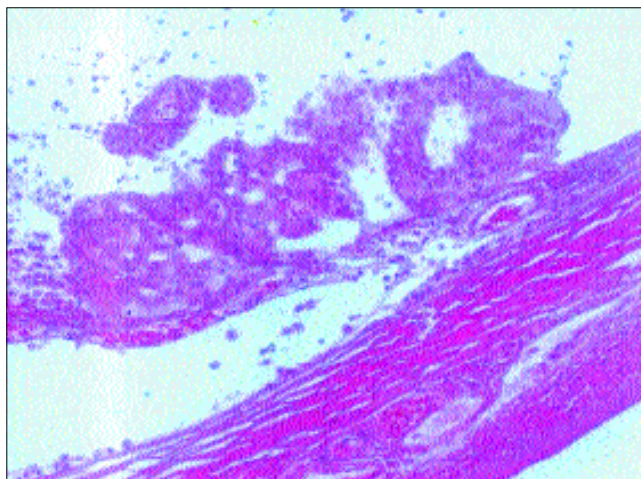
### Wstęp i cel pracy

Lipopolisacharyd (LPS), zwany też endotoksyną, umiejscowiony na powierzchni komórki bakterii Gram-ujemnej, stanowi integralny, a zarazem unikatowy składnik błony zewnętrznej bakteryjnej osłony komórkowej i jest niezbędny do funkcjonowania i przeżywalności bakterii (1,2,3,4). Odgrywa istotną rolę, jako czynnik wirulencji bakterii, w przypadkach posocznicy i wstrząsu septycznego (5). Iniekcja lipopolisacharydów może wywołać odczyn zapalny w oczach podatnych na nie zwierząt. Do zapaleń wywoływanych przez LPS bakteryjne należy tzw. zapalenie błony naczyniowej wywoływane przez endotoksyny bakteryjne (EIU – endotoxin induced uveitis). Do zewnętrznych czynników wywołujących ostre zapalenie przedniego odcinka błony naczyniowej należą m. in. toksyny bakterii Gram-uje-

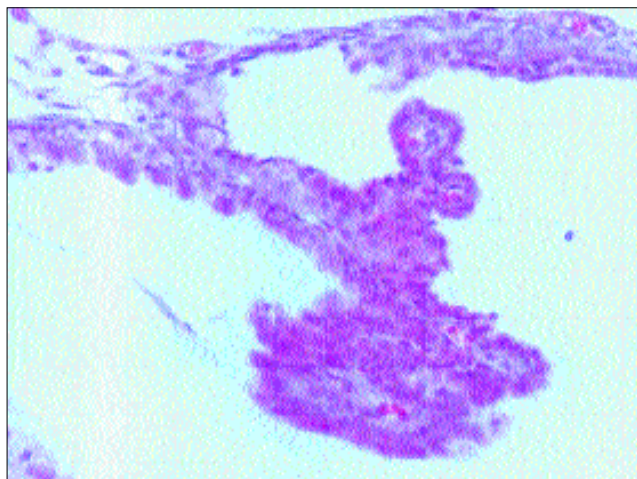
mnych: *Klebsiella pneumoniae*, *Yersinia enterocolitica*, *Enterobacter aerogenes*, *Shigella sonnei*, *Hania alvei*. W naszej pracy podjęliśmy próbę ilościowej oceny zmian histologicznych w przebiegu zapalenia błony naczyniowej, indukowanych przez różne typy jednorodnych soli endotoksyn *Havnia alvei*. W tym celu posłużyliśmy się modelem eksperymentalnego zapalenia siatkówkowo-naczyniówkowego, które jest jednym z podstawowych w badaniu chorób o podłożu autoimmunologicznym (6,7).

### Materiał i metody

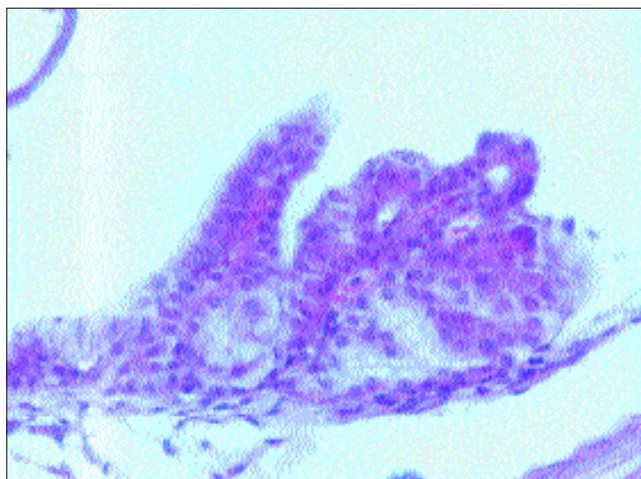
Badania przeprowadzono u 71 szczurów rasy Lewis (samców). Szczury podzielono na 4 grupy, którym podawano w jednorazowej iniekcji podskórnej jednorodne sole *Hafnia alvei*: w grupie I – LPS



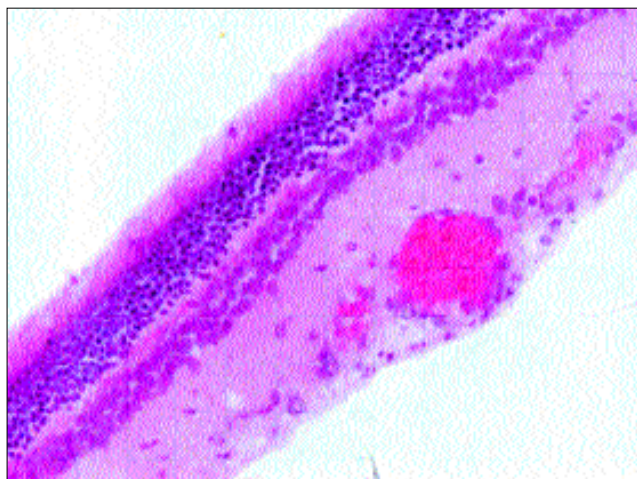
Ryc. 1. Grupa I – LPS 981D po 24 godz. H&E x 100.  
Fig. 1. Group I – LPS 981D after 24 h H&E x 100.



Ryc. 3. Grupa II – LPS Ca<sup>++</sup> po 7 dniach H&E x 100.  
Fig. 3. Group II – LPS Ca<sup>++</sup> after 7 days H&E x 100.



Ryc. 2. Grupa II – LPS Ca<sup>++</sup> po 48 godz. H&E x 100.  
Fig. 2. Group II – LPS Ca<sup>++</sup> after 48 h H&E x 100.



Ryc. 4. Grupa I – LPS 981D po 24 godz. część tylna H&E x 100.  
Fig. 4. Group II – LPS 981D after 24 h part posterior H&E x 100.

Ca<sup>++</sup>, w grupie II – LPS Na<sup>+</sup>, w grupie III – LPS 981, w grupie IV – sól fizjologiczną (grupa kontrolna). Badania histologiczne i immunocytochemiczne wykonywano po 24, 48 godzinach, następnie po 4 i 7 dniach od iniekcji. Zmiany histologiczne poddawane były analizie ilościowej za pomocą systemu Highly Optimazed Microscope Enviroment. System ten pozwala dokonać w sposób interaktywny i ciąglej oceny ilościowej zmian w analizowanym obiekcie (narządzie/ fragmencie tkanki), nawet jeżeli jego powierzchnia obejmuje wiele pól mikroskopowych.

**Wyniki (tab. I)**

Najintensywniejszy proces zapalny obserwowano w grupach doświadczalnych po upływie 24 godzin (w grupie LPS 981D u 5 szczurów na 6; w grupie LPS Ca<sup>++</sup> – u 3 szczurów na 6 (ryc. 1). Po upływie 48 godzin intensywność procesu zapalnego wyraźnie się zmniejszała. W czwartym dniu proces zapalny wykazywał bardzo niewielki stopień nasilenia u wszystkich szczurów, a po 7 dniach był właściwie nieobecny (ryc. 2,3). W grupach kontrolnych obserwowano nieznaczny proces zapalny jedynie u pojedynczych szczurów. Stan przekrwienia ciała rzęskowego utrzymywał się u większości szczurów eksperymentalnych do 48 godzin, tylko u pojedynczych prze-

krwień obserwowano w 4. dobie. W odcinku tylnym obserwowano pojawianie się bardzo niewielkiego procesu zapalnego już pod koniec 1. doby (grupa I i II po 24 godzinach) (ryc. 4). Proces ten utrzymywał się do 4. dnia, po 7 dniach wygasł (tab. I).

	24 godz. 24 h	48 godz. 48 h	4. dzień 4 <sup>th</sup> day	7. dzień 7 <sup>th</sup> day
LPS 981D	++/+++	++	+	+/-
LPS Ca <sup>++</sup>	+ /+++	++	+	+/-
LPS Na <sup>+</sup>	++	+	+/-	-
grupy kontrolne	-	-	-	-

Tab. I. Intensywność procesu zapalnego.  
Tab. I. Intensity of uveitis.

**Wnioski**

Na modelach doświadczalnych ostrego zapalenia błony naczyniowej indukowanego u szczurów za pomocą endotoksyn bakteryjnych *Havnia alvei* udowodniono, że mogą one po podaniu pozaje-

litowym wywołać stan zapalny w gałce ocznej. Najbardziej intensywny proces zapalny w przedniej i tylnej części błony naczyniowej wywołują jednorodne sole *Havnia alvei* 981. Proces zapalny obserwowano także w tylnym odcinku, czego nie wykazano we wcześniejszych pracach (7,8).

**PIŚMIENNICTWO:** 1. Reitschel E. T., Kirikae T., Schade F. U., Mamat U., Schmidt G., Loppnow H., Ulmer A., Jandall E.: *Bacterial endotoxin: molecular relationship of structure of activity and function*. FASEB Journal, 1994, 8, 217-225. 2. Vesey C. J., Kitchens R. L., Wolfbauer G., Albers J. J., Munford R. S.: *Lipopolysaccharide-binding protein and phospholipid transfer protein release lipopolysaccharides from Gram-negative bacterial membranes*. Infect. Immun., 2000, 66, 2410-2417. 3. Netea M. G., Van Deuren M., Kullberg B. J., Cavallion J. M., Van der Meer J. W.: *Does*

*the shape of lipid A determine the interaction of LPS with toll-like receptors?* Trends Immunol., 2002, 23, 135-139. 4. Gamian A., Romanowska E., Dąbrowski U., Dąbrowski J.: *Structure of the O-specific polysaccharide containing pentitol phosphate, isolated from Hafnia alvei strain PCM 1191 lipopolysaccharide*. Eur. J. Biochem., 1993, 213, 1255-1260. 5. Misiuk-Hojło M.: *Zapalenie przedniego odcinka błony naczyniowej – aspekty kliniczne*. Okulistyka, 1999, 1, 13-18. 6. Misiuk-Hojło M.: *Experimental endotoxin-induced anterior uveitis*. Med. Sci. Monit., 1998, 4, 195-198. 7. Hylkema H. A.: *The role of the immune system in uveitis induced in animals*. 1989, 70, 339-351. 8. Herbort C. P., Chan C. C., Nussenblatt R. B.: *Endotoxin-induced uveitis in the rat: a hypothesis for preferential involvement of the anterior uvea*. Curr. Eye Res., 1990, (9) Suppl., 119-124.

Praca wpłynęła do Redakcji 16.04.2004 r. (509).

**Adres do korespondencji (Reprint requests to):**

Marta Misiuk-Hojło  
Katedra i Klinika Okulistyki AM  
ul. Chałubińskiego 2a  
50-367 Wrocław