

**Д. С. Зяблицев\***

Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, Київ, Україна  
<https://orcid.org/0000-0002-2671-2343>

**В. В. Михайловська**

Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, Київ, Україна  
<https://orcid.org/0009-0000-7218-4222>

**А. І. Курченко**

Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, Київ, Україна  
<https://orcid.org/0000-0001-6858-2025>

## Дисфункція епітеліального бар'єра при експериментальному гострому пошкодженні легень: зміни експресії протеїну Zonula Occludens-1

**Актуальність.** Гостре легеневе ушкодження (ГЛУ) та синдром гострого респіраторного дистресу (ГРДС) залишаються провідними причинами летальності при критичних станах. Ключовим механізмом розвитку ГЛУ/ГРДС є ушкодження альвеолярно-капілярного бар'єра, зумовлене порушенням організації щільних міжклітинних контактів (tight junctions), що призводить до персистуючого набряку, гіпоксемії та може спричинити фіброзне ремоделювання легень. Центральним регулятором структури та функції TJs є адаптерний білок zonula occludens-1 (ZO-1). Попри зростання доказів щодо критичної ролі ZO-1 у бар'єрній дисфункції, часова динаміка його експресії при розвитку ГЛУ, особливо в контексті переходу від гострого ексудативного ушкодження до фіброгенезу, залишається недостатньо вивченою.

**Ціль:** визначити часову динаміку вмісту протеїну ZO-1 у тканині легень щурів на 1, 3, 5, 7, 14 та 21 добу після індукції ГЛУ комбінованим впливом ліпополісахариду та інтратрахеального стороннього тіла й охарактеризувати її зв'язок з морфологічними фазами розвитку ексудативно-геморагічної пневмонії та легеневого фіброзу.

**Матеріали та методи.** У щурів-самців лінії Wistar масою 190-220 г (n = 47) моделювали гостре легеневе ушкодження шляхом комбінованого введення ліпополісахариду (системно та інтратрахеально) та інтратрахеального стороннього тіла (капронова нитка, довжина 2,5 см, товщина 0,2 мм). Тварин виводили з експерименту на 1, 3, 5, 7, 14 і 21 добу (по 7 особин на термін), проводили гістологічне дослідження легеневої тканини (забарвлення гематоксиліном та еозином) і визначення вмісту ZO-1 методом імуноблотингу з використанням моноклональних антитіл (Invitrogen, США) та денситометричним аналізом (TotalLab). Контрольну групу склали хібнооперовані тварини (n = 5). Статистичну обробку виконували з використанням дисперсійного аналізу (ANOVA), статистично значущими вважали значення  $p < 0,05$ .

**Результати.** У щурів з ГЛУ виявлено прогресування морфологічних змін легень від вираженого набряку паренхіми з геморагічним ексудатом у просвіті альвеол (1-5 доба) до продуктивного запалення з активною проліферацією фібробластів і формуванням фібрилярної сітки (7-21 доба). За даними імуноблотингу, вміст ZO-1 знижувався на 8,4-19,1 % протягом 1-5 доби ( $p < 0,05$ ), досягаючи критичного мінімуму на 7-му добу – становив лише 11,6 % від контрольного рівня ( $p < 0,05$ ), що співпадало з піком ексудативно-геморагічної пневмонії. На 14-21 добу спостерігалось часткове відновлення ZO-1, проте вміст білка залишався суттєво зниженим порівняно з контролем (на 58,2-62,2 %;  $p < 0,05$ ), що корелювало

**Suggested Citation:**

Ziablitsev DS, Mykhailovska VV, Kurchenko AI. Epithelial barrier dysfunction in Experimental acute lung injury: Changes in Zonula Occludens-1 protein expression Med Sci Ukr. 2026;22(1):78-85. DOI: <https://doi.org/10.32345/2664-4738.1.2026.09>

\*Corresponding author ([denis898@gmail.com](mailto:denis898@gmail.com))



з морфологічною картиною активного фіброзування паренхіми та свідчило про неповноцінність епітеліальної репарації.

**Висновок.** Тривале зниження ZO-1 є не лише наслідком, а й активним патогенетичним чинником фіброгенезу, що обґрунтовує перспективність розгляду цього білка як прогностичного біомаркера та терапевтичної мішені для профілактики фіброзних ускладнень при ГРДС.

**Ключові слова (MeSH):** гостре легеневе ушкодження; Zonula occludens-1; щільні міжклітинні контакти; легеневий бар'єр; щури.

### АКТУАЛЬНІСТЬ

Гостре легеневе ушкодження (ГЛУ) та його найтяжча клінічна форма – синдром гострого респіраторного дистресу (ГРДС) залишаються провідними причинами летальності при критичних станах, асоційованих із сепсисом, тяжкою пневмонією, аспірацією та травмою [12]. Центральним патофізіологічним механізмом розвитку та прогресування ГЛУ/ГРДС є ушкодження альвеолярно-капілярного бар'єра, що призводить до формування набряку легень, порушення газообміну та резистентної гіпоксемії [2]. Попри значний прогрес у розумінні патогенезу ГЛУ/ГРДС, ефективні терапевтичні стратегії, спрямовані на відновлення бар'єрної функції легень і профілактику фіброзного ремоделювання, залишаються обмеженими, що зумовлює актуальність поглибленого дослідження молекулярних механізмів бар'єрної дисфункції.

Ключову роль у підтриманні структурної та функціональної цілісності альвеолярно-епітеліального бар'єра відіграють щільні міжклітинні контакти (tight junctions; TJs), які формують селективний парацелюлярний бар'єр і обмежують пасивний транспорт рідини, електролітів та макромолекул між клітинами епітелію [3]. Порушення організації TJs є одним із провідних механізмів підвищення проникності альвеолярного епітелію, персистенції набряку та затримки кліренсу альвеолярної рідини при ГЛУ/ГРДС.

Центральним регулятором організації та стабільності щільних контактів є адаптерний білок zonula occludens-1 (ZO-1), який з'єднує трансмембранні компоненти контактів з активним цитоскелетом клітини та виконує важливі сигнальні функції [4]. Експериментальні й клінічні дослідження останніх років демонструють, що при ГЛУ/ГРДС відбувається зниження експресії та порушення субклітинної локалізації ZO-1, що тісно корелює зі ступенем ушкодження альвеолярного бар'єра та тяжкістю перебігу захворювання [5, 6].

Вважається, що порушення цілісності щільних міжклітинних контактів унаслідок дисфункції ZO-1 сприяє персистуючому альвеолярному набряку й створює умови для хронізації запалення та патологічного ремоделювання легеневої тканини з розвитком інтерстиціального фіброзу [7]. У зв'язку з цим динаміка змін вмісту ZO-1 на різних етапах розвитку ГЛУ, зокрема в критичний період переходу від гострої ексудативної фази до продуктивного

запалення та фіброгенезу, залишається недостатньо вивченою, особливо в контексті комплексних експериментальних моделей.

Для аналізу зазначених механізмів було обрано модель ГЛУ, індуковану комбінованим введенням ліпополісахариду (LPS) та механічного стороннього тіла, що дозволяє відтворити ключові патогенетичні ланки, включаючи потужну системну запальну відповідь, нейтрофільну інфільтрацію та пряме пошкодження альвеолярного епітелію [7].

**Ціль:** визначити часову динаміку вмісту протеїну ZO-1 у тканині легень щурів на 1, 3, 5, 7, 14 та 21 добу після індукції гострого легеневого ушкодження комбінованим впливом ліпополісахариду та інтратрахеального стороннього тіла й охарактеризувати її зв'язок з морфологічними фазами розвитку ексудативно-геморагічної пневмонії та легеневого фіброзу.

Очікується, що отриманий профіль експресії ZO-1 дозволить краще зрозуміти його роль не лише як маркера гострої бар'єрної дисфункції, але й як потенційного чинника, що впливає на довгострокове патологічне ремоделювання легень.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

При виконанні роботи дотримувалися норм та принципів Директиви 2010/63 ЄС з захисту тварин, Гельсінкської декларації (2008) та вимог Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 1759-VI від 15.12.2009). На проведення дослідження було отримано дозвіл комісії з біоетики та академічної доброчесності Національного медичного університету імені О. О. Богомольця.

Моделювання експериментального гострого легеневого ушкодження здійснювали як було описано раніше, шляхом введення стороннього тіла та розчину ліпополісахариду системно та інтратрахеально у лабораторних щурів-самців лінії Вістар масою 190-220 г (47 особин) [8, 9].

Хібнооперованим тваринам (контроль) виконували всі хірургічні маніпуляції, крім введення в трахею капронової нитки та розчину ліпополісахариду (контроль; n = 5). Протягом одного місяця після операції визначали загальний стан тварин, ректальну температуру, ступень ціанозу, наявність задишки, частоту дихальних рухів (ЧДР), аускультативні прояви. Тварин виводили з експерименту на 1, 3, 5, 7, 14 і 21 добу спостереження по 7 особин на

кожний термін. Для морфологічних досліджень серійні парафінові зрізи легень забарвлювали гематоксиліном та еозином. Світлову мікроскопію проводили на світлооптичному мікроскопі «Olimpus BX 40» додатково обладнаному цифровою камерою «Olimpus C3030-ADU» та програмним забезпеченням «Olimpus DP-Soft».

Вміст протеїну ZO-1 у лізатах тканини визначали методом імуноблоттингу. Зразки тканини витримували в скрапленому азоті, подрібнювали та гомогенізували в 50 ммоль Tris-HCl буфері (pH 7,4) з додаванням інгібіторів фосфатаз та протеаз (Pierce Protease and Phosphatase inhibitor, «ThermoScientific», США). Електрофорез здійснювали у 8 %-му поліакриламідному гелі з додецилсульфатом натрію в камері для вертикального гелю-електрофорезу («BioRad», США). Протеїни з гелю переносили на нітроцелюлозну мембрану за допомогою електроблоту. Мембрани інкубували з моноклональними антитілами до протеїну ZO-1 («Invitrogen», США). Антитіла до актину ( $\beta$ -actin, «Invitrogen», США) використовували для його детекції як контролю нанесення протеїну. Після первинної інкубації мембрани відмивали та обробляли антивидовими вторинними антитілами, кон'югованими з пероксидазою хрому («Invitrogen», США). Напівкількісний аналіз проводили денситометрично, застосовуючи програмне забезпечення TotalLab (TL120, «Nonlinear Inc», США). Результати

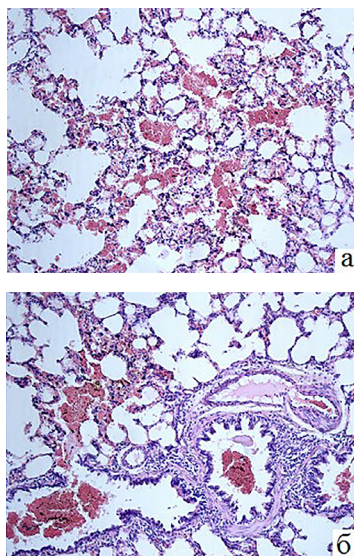
імуноблот-аналізу виражали в умовних одиницях від контрольного значення оптичної густини відповідної поліпептидної зони на блотограмі, нормованої за вмістом актину в кожному зразку.

Для статистичного аналізу здійснювали програмне забезпечення Statistica 10 («StatSoft, Inc.», США). Розраховували середні та їх стандартні похибки. Вибіркові середні порівнювали із застосуванням дисперсійного аналізу (ANOVA), вірогідними вважали значення  $p < 0,05$ .

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВРЕННЯ

У наших попередніх дослідженнях, при моделюванні гострого легеневого пошкодження, у щурів уже протягом перших 3-х діб розвивалася важка ексудативно-геморагічна пневмонія, яка або призводила до летального виходу (44,8 %) або – до розвитку легеневого фіброзу [8, 9]. На 1-3-у у всіх тварин спостерігалася прогресуюче посилення дистанційних хрипів, аускультативно фіксувалися явища крепітації, тахіпноє (частота дихальних рухів становила 96-144 рухів за хвилину), переривчасте, утруднене. Після 5-ї доби спостереження було відмічено стабілізування стану тварин, зникали вологі хрипи, але зберігалися ціаноз, загальна млявість, тварини погано доглядали за собою.

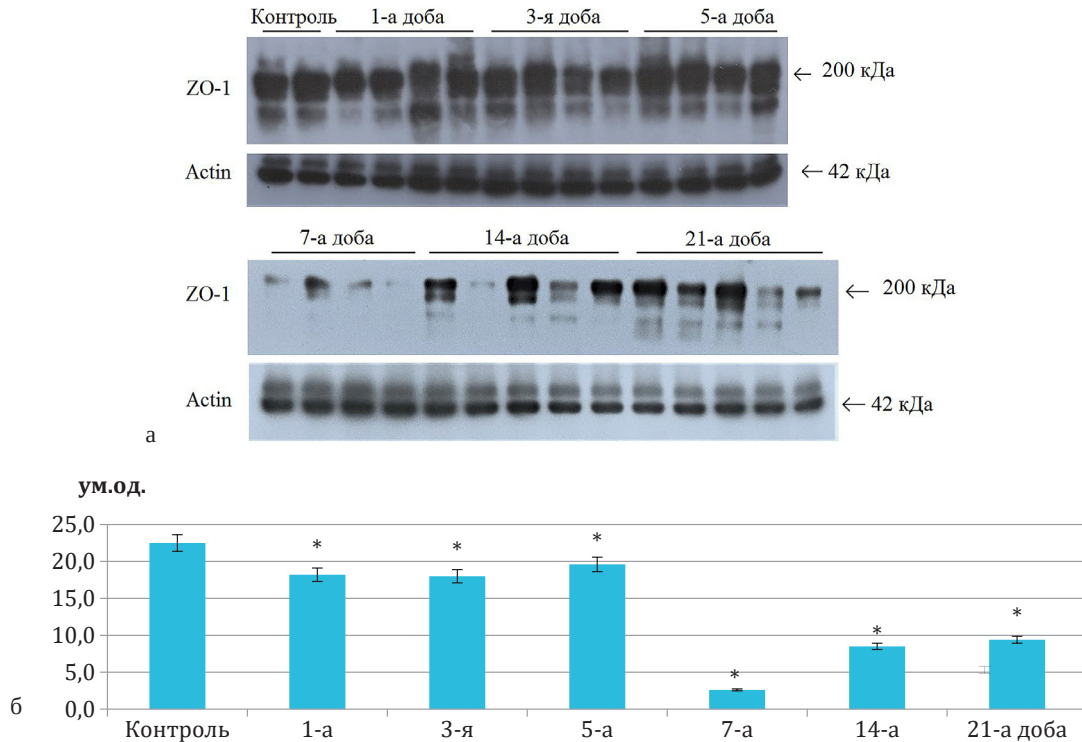
Морфологічно прояви гострого ексудативно-геморагічного запалення стрімко прогресували до 5-ї доби (рис. 1).



**Рисунок 1.** Легені щура, гостра ексудативно-геморагічна пневмонія, 5-а доба; а  $\times 100$ , б  $\times 200$

Визначався виражений набряк легеневої паренхіми з геморагічним ексудатом із домішками гною у просвіті альвеол, реактивна гіперплазія лімфоїдних фолікулів. З 7-ї доби в паренхімі починалася резорбція тканини, активна проліферація фібробластів з розвитком фібрилярної сітки та наростанням продуктивного запалення з активним фіброзуванням.

Тканинний вміст протеїну ZO-1 мав певну динаміку протягом спостереження (рис. 2). З 1-ї по 5-ту добу доби було виявлено його первинне зниження на 8,4-19,1 % ( $p < 0,05$ ). На 7-у добу вміст протеїну знижувався стрімкоподібно (на 88,4 %;  $p < 0,05$ ), після чого залишався суттєво зменшеним у порівнянні з контролем (на 58,2-62,2 %;  $p < 0,05$ ).



**Рисунок 2.** Рівень протеїну ZO-1 у динаміці розвитку гострого легеневого пошкодження

**Примітки:** – приклади репрезентативних блотограм протеїну ZO-1 і актину; б – результати денситометрії протеїну ZO-1 (відношення до оптичної щільності актину); \* – відмінність від контролю статистична значуща ( $p < 0,05$ )

Значне зниження вмісту протеїну ZO-1 за часом співпадало з максимальним розвитком ексудативно-геморагічної пневмонії, чим можна було пояснити різке зниження експресії протеїну. Імовірно, тканинний розпад, який активувався у гострий період запалення, гальмував утворення міжклітинних зв'язків та експресію протеїнів щільних міжклітинних контактів. В процесі розвитку фіброзу на 14-у і 21-у добу експресія протеїну ZO-1 відновлювалася, але лишалася на низькому рівні, що могло свідчити про гальмування процесів репарації легеневого епітелію.

#### Патофізіологічне значення раннього зниження експресії ZO-1 (1-5 доба)

Помірне зниження тканинного вмісту ZO-1 на 8,4-19,1 % упродовж 1–5 діб після індукції ГЛУ є патогенетично значущою подією його ранньої фази. ZO-1 виконує роль ключового адаптерного білка щільних міжклітинних контактів, забезпечуючи функціональний зв'язок трансмембранних білків із актиновим цитоскелетом та підтримуючи селективну проникність альвеолярного епітелію. Навіть помірна втрата цього білка асоціюється з підвищенням парацелюлярної проникності та порушенням бар'єрної стабільності [3, 5].

У ранній фазі запальної відповіді прозапальні цитокіни, зокрема TNF- $\alpha$  та IL-1 $\beta$ , активують сигнальні каскади RhoA/ROCK та MAPK, що спричиняє фосфорилування білків tight junctions,

реорганізацію актинового цитоскелету та дислокацію ZO-1 із міжклітинних контактів [5, 6]. Додатково оксидативний стрес та протеасомна деградація, характерні для початкового періоду ГЛУ, посилюють дестабілізацію білкових комплексів щільних з'єднань [6, 7]. Сукупність цих процесів формує молекулярне підґрунтя для розгерметизації альвелярно-капілярного бар'єра.

Отримані нами дані узгоджуються з морфологічною картиною ексудативно-геморагічного ураження легеневої паренхіми на 1–5 добу, коли набряк та накопичення білкового ексудату в просвіті альвеол відображають функціональну неспроможність епітеліального бар'єра. Таким чином, раннє зниження експресії ZO-1 слід розглядати не лише як маркер ушкодження, а як активний патогенетичний чинник, що визначає ініціацію легеневого набряку при ГЛУ.

#### Критичний спад ZO-1 на 7-му добу як індикатор переходу до незворотного ремоделювання

На відміну від помірної зниження ZO-1 у перші 5 діб, що відображало функціональну дестабілізацію бар'єру, різке зниження вмісту ZO-1 на 88,4% на 7-му добу розвитку експериментального ГЛУ, ймовірно, являє собою не лінійне поглиблення дисфункції, а якісний патофізіологічний зсув. Майже повне виснаження ZO-1 свідчить про руйнування молекулярного каркасу міжклітинних контактів. Втрата ZO-1 порушує механічну інтеграцію оклюдину та

клаудинів із актиновим цитоскелетом і позбавляє епітелій здатності до відновної збірки контактів, що є критичним для підтримання альвеолярної цілісності [10, 11].

Встановлені біохімічні дані узгоджуються з морфологічними змінами цього терміну: на 7-му добу фіксовано активацію проліферації фібробластів та формування фібрилярної сітки, що відповідає переходу від ексудативної до проліферативної фази ушкодження легень [12]. Тотальний колапс ZO-1-вмісних контактів формує патологічне мікросередовище з втратою епітеліальної полярності та зміною механічного натягу клітин, що активує TGF- $\beta$ -залежні сигнальні каскади. За цих умов ініціюється епітеліально-мезенхімальний перехід (ЕМП), який розглядається як один із ключових механізмів підтримки фіброгенезу після гострого ушкодження [13].

Отже, 7-ма доба може інтерпретуватися як «точка неповернення», коли глибока деструкція ZO-1 перестає бути маркером транзиторної бар'єрної нестабільності й набуває значення тригера незворотного ремодельовання. Стійке збереження низького рівня ZO-1 у пізніші терміни (14-21 доба) підтверджує неспроможність репараційної програми альвеолярного епітелію та підтримання фіброгенних процесів.

#### **Семіотика часткового відновлення ZO-1 на тлі фіброзу (14-21 доба): парадокс «загоєння з дефектом»**

На 14-ту та 21-шу добу спостереження рівень ZO-1 частково відновлювався, проте залишався статистично значуще нижчим за контрольні значення (на 58,2-62,2 %;  $p < 0,05$ ). Даний феномен є патофізіологічно неоднозначним: зростання загального вмісту білка не може розглядатися як еквівалент відновлення бар'єрної функції альвеолярного епітелію. У цей же період морфологічно прогресували явища продуктивного запалення з формуванням інтерстиційного фіброзу та ремодельованням альвеолярних перегородок. Тому часткове підвищення ZO-1 на тлі фіброзної перебудови може відображати не завершену репарацію, а перехід гострого ушкодження у фазу патологічного загоєння.

Принципово важливо розрізнити кількісне підвищення загального вмісту ZO-1 та його функціональну інтеграцію у структуру щільних міжклітинних контактів. Відновлення транскрипції або накопичення білка в цитоплазмі не гарантує правильної мембранної локалізації, формування безперервного апікального поясу контактів і взаємодії з актиновим цитоскелетом. За умов порушеної клітинної полярності навіть частково відновлений рівень ZO-1 може залишатися функціонально неспроможним.

Одним із ключових механізмів цього парадоксу є неповноцінна регенерація альвеолярного

епітелію. Після масивного ушкодження відновлення епітеліального шару здійснюється переважно за рахунок проліферації альвеолярних епітеліальних клітин типу II (AT2), які виконують роль резидентних прогеніторів. Однак за умов тяжкого ушкодження AT2-клітини можуть переходити в аберантний транзиторний стан (Krt8<sup>+</sup> transitional cells), що характеризується порушеною здатністю до повноцінної диференціації в зрілі клітини типу I [14]. Такі клітини здатні експресувати білки міжклітинних контактів, зокрема ZO-1, проте через незавершену апікально-базальну поляризацію та цитоскелетну дезорганізацію не формують функціонально інтегрованого бар'єру. Крім того, дисфункціональні AT2-клітини можуть підтримувати профіброзне мікрооточення через TGF- $\beta$ -залежні сигнальні шляхи, формуючи патологічний взаємозв'язок з активованими фібробластами [15].

Другим визначальним чинником є дезорганізуючий вплив фібротичної строми. Прогресуюче відкладення компонентів позаклітинного матриксу, зокрема колагену I та III типів, змінює жорсткість тканини, архітектоніку альвеолярних стінок та властивості базальної мембрани, що є критичним для правильної полярності епітеліальних клітин і організації щільних контактів [16]. Механотрансдукційні сигнали від ущільненої строми, зокрема через YAP/TAZ-залежні шляхи, підтримують проліферативний і недиференційований стан епітелію, перешкоджаючи завершенню регенеративної програми [17]. У таких умовах часткове підвищення рівня ZO-1 відображає лише молекулярну реакцію клітин на ушкодження, але не свідчить про структурну реституцію бар'єра.

Водночас тривале зниження ZO-1 у фазу 14-21 доби слід розглядати не як залишковий прояв гострої деструкції, а як активний маркер патологічного загоєння – «healing with a defect». Воно відображає структурну нездатність альвеолярного епітелію завершити регенеративну програму в умовах фіброзного ремодельовання. Часткове відновлення експресії ZO-1 у цьому контексті є семіотичним показником переходу гострого ушкодження у стадію дисфункціональної репарації, при якій зберігається дефект інтеграції міжклітинних контактів та бар'єрна недостатність.

Виявлені зміни вказують на доцільність подальшого вивчення молекулярних механізмів стабілізації щільних контактів та модифікації механотрансдукційних сигналів як потенційного напрямку профілактики фіброзного ремодельовання легень при експериментальному ГЛУ.

#### **ZO-1 як інтегральний маркер прогресування ГЛУ та потенційна терапевтична мішень**

Комплексний аналіз динаміки ZO-1 упродовж усього періоду спостереження дозволяє розглядати цей білок як інтегральний молекулярний

індикатор фазності експериментального гострого легеневого ушкодження. Зниження його рівня в ранні терміни (1-5 доба) відображає ініціацію бар'єрної дисфункції, критичний мінімум на 7-му добу – фазу структурно-функціонального колапсу альвеолярно-епітеліального бар'єра, тоді як неповне відновлення на 14-21 добу відповідає стадії неадекватної репарації на тлі фіброзного ремоделювання. Таким чином, динаміка ZO-1 відображає послідовну еволюцію ГЛУ – від гострої деструкції до патологічного загоєння.

Принципова наукова новизна отриманих результатів полягає у трактуванні тривалого зниження ZO-1 не лише як вторинного наслідку ушкодження, але й як активного патогенетичного чинника, здатного підтримувати фіброгенез. Дисфункція щільних контактів призводить до хронічної мікропроникності, персистуючого субклінічного запалення та зміни механічних характеристик мікрооточення. Порушення інтеграції ZO-1 у складі tight junctions може змінювати сигнальні шляхи, пов'язані з клітинною полярністю, проліферацією та механотрансдукцією, що створює умови для підтримання епітеліально-мезенхімальних взаємодій і активації фібробластів [11, 18]. У цьому контексті дефіцит ZO-1 виступає не просто маркером бар'єрної неспроможності, а складовою патологічного мікрооточення, яке стабілізує фіброгенний фенотип тканини.

Отримані дані узгоджуються з сучасними уявленнями про ключову роль відновлення альвеолярного бар'єра як самостійної терапевтичної цілі при ГЛУ/ГРДС [11]. Експериментальні дослідження демонструють можливість фармакологічної стабілізації щільних контактів через модуляцію сигнальних шляхів, залучених до регуляції ZO-1. Зокрема, інгібування рецептора сфінгозин-1-фосфату S1PR3 сприяло посиленню бар'єрної функції альвеолярного епітелію та зменшенню фіброзних змін [19], тоді як модуляція S1PR1 асоціювалася з відновленням цілісності ендотеліального бар'єра легень і зниженням інтерстиційного ремоделювання [20]. Додатково показано, що патологічна активація транспорту глюкози через GLUT1 у пізній фазі ГЛУ корелює з порушенням білків щільних контактів, включно з ZO-1, а його фармакологічна корекція сприяє частковому відновленню бар'єрних властивостей [18].

Отже, стабілізація міжклітинних контактів може розглядатися як перспективний напрямок таргетної терапії, здатної перервати патогенетичний каскад «бар'єрна дисфункція – персистуюче запалення – фіброз» на ранніх етапах його формування. У цьому аспекті ZO-1 має подвійне значення – як прогностичний біомаркер глибини ушкодження та як потенційна молекулярна мішень для модифікації перебігу захворювання.

Разом із тим, дослідження має певні методологічні обмеження. Кількісне визначення загального вмісту ZO-1 методом імуноблоттингу відображає сумарну тканинну концентрацію білка, проте не дозволяє оцінити його субклітинну локалізацію та ступінь інтеграції у функціональні щільні контакти. Подальші дослідження доцільно спрямувати на морфологічну верифікацію просторової організації ZO-1, функціональну оцінку бар'єрної проникності (транsepітеліальний електричний опір, маркери параклітинного транспорту) та експериментальну перевірку ефективності фармакологічної стабілізації tight junctions у моделі фіброзного ремоделювання.

Загалом отримані результати формують концептуальну основу для розгляду ZO-1 як інтегрального індикатора фазності ГЛУ та перспективної мішені для профілактики його фіброзних наслідків.

## ВИСНОВКИ

1. Динаміка вмісту ZO-1 у легеневій тканині відображає ключові фази гострого легеневого ушкодження: помірне зниження на 8,4-19,1 % у 1-5 добу (ініціація бар'єрної дисфункції); критичний спад на 88,4 % на 7-му добу (максимальне руйнування альвеолярно-епітеліального бар'єру); персистуючий дефіцит на 58,2-62,2 % на 14-21 добу (неадекватна репарація на тлі фіброзування).

2. Критичне зниження ZO-1 на 7-му добу є якісним зсувом, що знаменує перехід від зворотного ексудативного ушкодження до незворотного фіброзного ремоделювання. Колапс щільних контактів може створювати патологічне мікрооточення, яке через порушення механотрансдукції та індукцію епітеліально-мезенхімального переходу запускає активацію фібробластів.

3. Тривале зниження експресії ZO-1 у пізній фазі (14-21 доба) слід розглядати не лише як наслідок ушкодження, але й як активний патогенетичний фактор, що підтримує фіброгенез через формування порочного кола «аберантна регенерація епітелію – дисфункція щільних контактів – патологічне мікрооточення – прогресування фіброзу». Виявлені молекулярно-морфологічні закономірності обґрунтовують доцільність розгляду ZO-1 як перспективного прогностичного біомаркера та терапевтичної мішені для розробки стратегій профілактики фіброзного ремоделювання при гострому легенево-му ушкодженні та ГРДС.

## КОНФЛІКТ ІНТЕРЕСІВ

Автори даного рукопису стверджують, що конфлікт інтересів під час виконання дослідження та написання рукопису відсутній.

## ДЖЕРЕЛА ФІНАНСУВАННЯ

Виконання даного дослідження та написання рукопису було виконано без зовнішнього фінансування.

## REFERENCES

- [1] Thompson BT, Chambers RC, Liu KD. Acute respiratory distress syndrome. *New England Journal of Medicine*. 2017;377(6):562–572. doi: 10.1056/NEJMra1608077.
- [2] Herrero R, Sanchez G, Lorente JA. New insights into the mechanisms of pulmonary edema in acute lung injury. *Annals of Translational Medicine*. 2018;6(2):32. doi: 10.21037/atm.2017.12.18
- [3] Godbole NM, Chowdhury AA, Chataut N, Awasthi S. Tight junctions, the epithelial barrier, and Toll-like receptor-4 during lung injury. *Inflammation*. 2022;45(6):2142–2162. doi: 10.1007/s10753-022-01708-y
- [4] Van Itallie CM, Anderson JM. Architecture of tight junctions and principles of molecular composition. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2014;6(7):a016048. doi: 10.1101/cshperspect.a016048
- [5] Ji W, Hu Q, Zhang M, Zhang C, Chen C, Yan Y, Zhang X, Chen S, Tao L, Zhang W, Jin Y, Duan G. The Disruption of the Endothelial Barrier Contributes to Acute Lung Injury Induced by Coxsackievirus A2 Infection in Mice. *Int J Mol Sci*. 2021 Sep 13;22(18):9895. doi: 10.3390/ijms22189895.
- [6] Wang J, Chao J. *Epithelial Cell Dysfunction in Pulmonary Fibrosis: Mechanisms, Interactions, and Emerging Therapeutic Targets*. Pharmaceuticals (Basel). 2025 May 28;18(6):812. doi: 10.3390/ph18060812.
- [7] Nagato AC, Machado-Junior PA, Valenca SS, Russo RC, Bezerra FS. Experimental Models of Acute Lung Injury to Study Inflammation and Pathophysiology: A Narrative Review. *Antioxidants (Basel)*. 2026 Jan 2;15(1):63. doi: 10.3390/antiox15010063.
- [8] Ziablitsev DS. Morphogenesis of lung damage in lipopolysaccharide-induced acute aspiration bronchopneumonia. *Morphologia*. 2021;15(4):48-55. doi:10.26641/1997-9665.2021.4.48-55.
- [9] Ziablitsev DS, Mykhalovska VV, Kurchenko AI. Dynamics of the content of hypoxia-inducible factor- $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in lung tissue during the development of hemorrhagic pneumonia with fibrosis. *Med Sci Ukr*. 2025;21(3):94-105. doi:10.32345/2664-4738.3.2025.10.
- [10] Kuo WT, Odenwald MA, Turner JR, Zuo L. Tight junction proteins occludin and ZO-1 as regulators of epithelial proliferation and survival. *Ann N Y Acad Sci*. 2022;1514(1):21-33. doi: 10.1111/nyas.14798
- [11] Bhattacharya J, Matthay MA. Regulation and repair of the alveolar–capillary barrier in acute lung injury. *Annu Rev Physiol*. 2023;85:123-148. doi: 10.1146/annurev-physiol-030822-101647.
- [12] Younesi FS, Miller AE, Barker TH, Rossi FMV, Hinz B. Fibroblast and myofibroblast activation in normal tissue repair and fibrosis. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2024;25(8):617-638. doi: 10.1038/s41580-024-00716-0.
- [13] Hill C, Li J, Liu D, et al. Epithelial-mesenchymal transition contributes to pulmonary fibrosis via activation of TGF- $\beta$ /Smad3 signaling pathway. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2023;68(4):412-425. doi: 10.1165/rcmb.2022-0352OC.
- [14] Strunz M, Simon LM, Ansari M, Kathiriya JJ, Milenkovic I, Petrova D, et al. Alveolar regeneration through a Krt8<sup>+</sup> transitional stem cell state that persists in human lung fibrosis. *Nature Communications*. 2020;11(1):3559. doi: 10.1038/s41467-020-17358-3.
- [15] Parimon T, Yao C, Stripp BR, Noble PW, Chen P. Alveolar epithelial type II cells as drivers of lung fibrosis in idiopathic pulmonary fibrosis. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(7):2269. doi: 10.3390/ijms21072269.
- [16] Li W, Xie Y, Chen Z, Cao D, Wang Y. Epithelial-mesenchymal transition in pulmonary fibrosis: molecular mechanisms and emerging therapeutic strategies. *Frontiers in Medicine (Lausanne)*. 2025;12:1658001. doi: 10.3389/fmed.2025.1658001.
- [17] Dupont S, Wickström SA. Mechanical regulation of epithelial tissue repair. *Current Opinion in Cell Biology*. 2022;78:102119. doi: 10.1016/j.ceb.2022.102119.
- [18] Tang H, Chen Z, Gan S, Liang Y, Zhang H, Yang C, Lin L, Guo Y, Li S, Li J, Yao L. GLUT1 contributes to impaired epithelial tight junction in the late phase of acute lung injury. *Eur J Pharmacol*. 2023 Dec 15;961:176185. doi: 10.1016/j.ejphar.2023.176185.
- [19] Hao M, Tang G, Zhou E, Fu R, Wang M, Jiang H, Chen X, Bai L, Lv X, Jin J. S1PR3 inhibition in alveolar epithelial cells alleviates pulmonary fibrosis by enhancing alveolar barrier function. *Respir Res*. 2025 Dec 12;27(1):15. doi: 10.1186/s12931-025-03435-y.
- [20] Hao M, Fu R, Tai J, Tian Z, Yuan X, Chen Y, Wang M, Jiang H, Ji M, Lai F, Xue N, Bai L, Zhu Y, Lv X, Chen X, Jin J. S1PR1 serves as a viable drug target against pulmonary fibrosis by increasing the integrity of the endothelial barrier of the lung. *Acta Pharm Sin B*. 2023 Mar;13(3):1110-1127. doi: 10.1016/j.apsb.2022.10.006.

**D.S. Ziablitsev**

Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine  
<https://orcid.org/0000-0002-2671-2343>

**V.V. Mykhailovska**

Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine  
<https://orcid.org/0009-0000-7218-4222>

**A.I. Kurchenko**

Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine  
<https://orcid.org/0000-0001-6858-2025>

## Epithelial barrier dysfunction in Experimental acute lung injury: Changes in Zonula Occludens-1 protein expression

**Background.** Acute lung injury (ALI) and acute respiratory distress syndrome (ARDS) remain the leading causes of mortality in critical conditions. A key mechanism in the development of ALI/ARDS is damage to the alveolar-capillary barrier, caused by disruption of the organization of tight junctions (TJs), which leads to persistent edema, hypoxemia, and can cause fibrotic lung remodeling. A central regulator of TJ structure and function is the adaptor protein zonula occludens-1 (ZO-1). Despite growing evidence for a critical role of ZO-1 in barrier dysfunction, the temporal dynamics of its expression during the development of ALD, especially in the context of the transition from acute exudative injury to fibrogenesis, remain poorly understood.

**Aim:** to determine the temporal dynamics of ZO-1 protein content in rat lung tissue on days 1, 3, 5, 7, 14 and 21 after induction of ALI by the combined effect of lipopolysaccharide and intratracheal foreign body and to characterize its relationship with the morphological phases of development of exudative-hemorrhagic pneumonia and pulmonary fibrosis.

**Materials and methods.** In male Wistar rats weighing 190-220 g (n = 47), ALI was simulated by the combined administration of lipopolysaccharide (systemically and intratracheally) and intratracheal foreign body (kapron thread, length 2.5 cm, thickness 0.2 mm). Animals were withdrawn from the experiment on days 1, 3, 5, 7, 14 and 21 (7 animals per term), histological examination of lung tissue (hematoxylin and eosin staining) and determination of ZO-1 content by immunoblotting using monoclonal antibodies (Invitrogen, USA) and densitometric analysis (TotalLab) were performed. The control group consisted of sham-operated animals (n = 5). Statistical analysis was performed using analysis of variance (ANOVA), p < 0.05 was considered statistically significant.

**Results.** In rats with ALI, progression of morphological changes in the lungs was detected from pronounced parenchymal edema with hemorrhagic exudate in the lumen of the alveoli (days 1-5) to productive inflammation with active proliferation of fibroblasts and formation of a fibrillar network (days 7-21). According to immunoblotting, the content of ZO-1 decreased by 8.4-19.1% during days 1-5 (p < 0.05), reaching a critical minimum on day 7 – it was only 11.6% of the control level (p < 0.05), which coincided with the peak of exudative-hemorrhagic pneumonia. On days 14-21, partial recovery of ZO-1 was observed, but the protein content remained significantly reduced compared to the control (by 58.2-62.2%; p < 0.05), which correlated with the morphological picture of active parenchymal fibrosis and indicated the inferiority of epithelial repair.

**Conclusion.** A prolonged decrease in ZO-1 is not only a consequence, but also an active pathogenetic factor of fibrogenesis, which justifies the prospect of considering this protein as a prognostic biomarker and therapeutic target for the prevention of fibrotic complications in ARDS.

**Keywords:** Acute Lung Injury; Zonula Occludens-1; Tight Junctions; Pulmonary Barrier; Rats.