

В.Д.Марковский
А.А.Сакал

Харьковский национальный
медицинский университет

Ключевые слова: внутри-
утробная инфекция, беремен-
ность, печень, крысы, плод.

Надійшла: 21.08.2016

Прийнята: 12.09.2016

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2016.3.199-202>

УДК: [616.36-022.7:579.842.11]-091.8-092.9

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СО- СТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ ПОТОМСТВА ОТ МАТЕРЕЙ, ИНФИЦИРОВАННЫХ ESHERICHIA COLI (ЭКСПЕРИМЕН- ТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Данное исследование проведено в рамках научно-исследовательской работы «Вплив плодово-материнської інфекції на ембріогенез та фетогенез нащадків (клініко-морфологічне дослідження)» (№ державної реєстрації 0115U000987).

Реферат. Внутриутробная инфекция оказывает повреждающее действие на печень плодов. С целью выявления морфофункционального состояния печени плодов крыс, инфицированных *Escherichia coli*, мы провели эксперименты: моделирование хронической внутриутробной гипоксии (ХВИ) и моделирование инфекции. Экспериментальный материал был разделён на три группы: контрольную, группу сравнения – ХВИ и основную группу – инфицированных *Escherichia coli*. Внутриутробное инфицирование и гипоксия плода, обуславливают развитие альтеративных изменений, проявляющиеся дистрофией и некробиозом гепатоцитов, нарушением балочного строения печеночных долек на фоне умеренно выраженных компенсаторно-адаптационных процессов.

Morphologia. – 2016. – Т. 10, № 3. – С. 199-202.

© В.Д.Марковский, А.А.Сакал, 2016

✉ sakal_anna@ukr.net

Markovskiy V.D., Sakal A.A. Morphofunctional state of the liver of rat progeny from mothers, infected with *Escherichia Coli* (experimental research).

ABSTRACT. Background: As a result of extensive and sometimes uncontrolled use of antibacterial drugs the role of conditionally pathogenic microbiota in the development of inflammatory processes significantly increased. An important problem is infections caused by conditionally pathogenic microflora in pregnant women, especially important role of *E.coli*. Our study of morphofunctional state of progeny liver from mothers with infections caused by *Escherichia coli*, will clarify special features of infection impact on fetus liver. **Objective:** to identify morphological and functional features of liver of fetuses, who were born from mothers with prolonged subacute infectious process caused by *Escherichia coli*. **Methods:** In order to detect morphofunctional state of the liver of rat fetuses, from mothers, who were infected by *Escherichia coli*, we conducted two experiments: modeling of chronic intrauterine hypoxia (CIH) and modeling of infection. The experimental material was divided into three groups: control group, group with chronic intrauterine hypoxia - CIH and main group – infected by *Escherichia coli*. **Results:** In our study we revealed significant differences between control group and CIH group, as well as between the main group and CIH group. In CIH group liver we found: signs of edema, central venous congestion with hemorrhages in center of lobules. Hepatocytes were in condition of protein dystrophy, sometimes we identified foci of necrosis, which is likely due to influence of hypoxia. In main group we identified the following morphological changes: edema, hyaline droplet degeneration of hepatocytes, also we found, hyperchromatic vacuolated cytoplasm, sometimes we determined non-nuclear, necrotic cells and also we found hepatocytes with larger hyperchromatic nuclei. In liver cells we noticed the increase of degenerative changes accompanied by severe edema of stroma. **Conclusion:** When mother is infected by *Escherichia coli* in her offsprings liver we can see developing of alterative changes manifested by dystrophy and necrobiosis of hepatocytes, violation of structure of hepatic lobules on the background of moderately severe compensatory and adaptive processes.

Key words: intrauterine infection, pregnancy, liver, rat, fetus.

Citation:

Markovskiy VD, Sakal AA. [Morphofunctional state of the liver of rat progeny from mothers, infected with *Escherichia Coli* (experimental research)]. *Morphologia*. 2016;10(3):199-202. Russian.

Введение

В результате широкого и иногда бесконтрольного применения антибактериальных пре-

паратов существенно возросла роль условно-патогенной микрофлоры в развитии воспалительных процессов. Все чаще встречаются ин-

фекционные заболевания, вызванные *Escherichia coli*. В результате превышения концентрации клеток энтеробактерий вида *Escherichia coli* выше допустимой нормы они способны мигрировать в мезентериальные лимфатические узлы и кровь, что может привести к воспалительным процессам в паренхиматозных органах с развитием множественных экстра-интерстициальных инфекций. Особенно актуальной проблемой является инфицирование условно-патогенными микроорганизмами беременных женщин [1, 2, 3].

Инфекционная патология будущей матери может не нарушать нормального течения гестационного процесса и развития плода в тех случаях, когда процесс инфицирования не сопровождается выраженными изменениями гуморального иммунитета с нарушением продукции этиотропных антител. Внутриутробная инфекция непосредственно воздействует на плод вследствие интоксикации продуктами нарушенного метаболизма, что приводит к истощению компенсаторно-приспособительных процессов в системе мать-плацента-плод и развитию гипоксии [4]. Бессимптомная или даже лёгкая - формы материнской инфекции, которая обусловлена различными инфекционными агентами, способна вызывать тяжелые поражения органов и систем развивающегося организма и возможно его гибель. В то же время острая или слабо выраженная инфекция у матери не обязательно заканчивается гибелью плода [5].

Одним из органов, который часто вовлекается в патологический процесс у плодов и новорожденных, является печень, что связано с ее физиологической незрелостью [6, 7]. Изучение морфофункционального состояния печени плодов от матерей с инфекцией, вызванной *Escherichia coli*, позволит выяснить особенности воздействия инфекционного процесса на морфофункциональное состояние печени плода. Изученные изменения откроют новые аспекты механизмов нарушений гепатобиллиарной системы у плодов.

Цель исследования: выявить морфофункциональные особенности печени плодов от матерей с подострой пролонгированной инфекционной патологией, вызванной *Escherichia coli*.

Материалы и методы

Нами был проведен эксперимент с использованием крыс популяции WAG. Материалом для исследования послужила ткань печени доношенных плодов от здоровых лабораторных крыс линии WAG с физиологическим течением беременности (контрольная группа, 9 плодов), ткань печени плодов страдавших хронической внутриутробной гипоксией (ХВГ) (группа сравнения, 7 плодов) и ткань печени плодов от матерей с инфекционной патологией, вызванной *Escherichia coli*. (основная группа, 10 плодов).

При моделировании ХВГ создавались усло-

вия высокогорной гипоксии. При этом использовалась герметичная барокамера, из которой выкачивали воздух и создавали условия резкого уменьшения атмосферного давления. В течение беременности (21 день) крыс каждый день в одно и то же время на 20 мин помещали в условия, соответствующие подъёму на высоту 7500 м, что соответствовало давлению 287 мм рт. ст. [8].

В следующем эксперименте установлена инфицирующая доза, для развития подострого, пролонгированного, инфекционно-воспалительного процесса в брюшной полости самки крысы. Для моделирования инфекционно-воспалительного процесса в качестве инфекционного агента использовался референс-штамм *Escherichia coli* (ATCC 25922 (F50)). В дальнейшем, с помощью выведенной нужной дозы, был смоделирован подострый, пролонгированный, инфекционно-воспалительный процесс в брюшной полости самки крысы, после чего к инфицированной самке подсаживали самцов, самки беременели, полученное потомство выводили из эксперимента.

Все манипуляции с животными выполнялись согласно правилам Европейской конвенции по защите позвоночных животных (Страсбург, 18.03.1986) и директивы Совета Европейского экономического общества по защите позвоночных животных (Страсбург, 24.11.1986).

Для морфологического исследования у всех плодов вырезались кусочки печени, фиксировались в 10 % формалине и заливали в парафин. Затем материал подвергался стандартной проводке. Препараты печени окрашивались гематоксилином и эозином для обзорной микроскопии. С помощью микроскопа Olympus VX-41 с использованием компьютерной программы Microsoft Excel проводили комплекс морфологических и морфометрических исследований, в ходе которого определяли площадь ядра, цитоплазмы, клетки в целом, объёмы ядра, цитоплазмы, клетки, ядерно-цитоплазматический индекс (ЯЦИ), а также подсчитывалась плотность расположения гепатоцитов в 1мм^2 .

Все данные обрабатывались методами математической статистики с использованием вариационного и корреляционного анализов. Для определения достоверности результатов использовали критерий Манна Уитни Уилкоксона, для проведения корреляционного анализа использовали коэффициент корреляции Спирмена [9].

Результаты и их обсуждение

При макроскопическом исследовании печень крысят всех групп не отличается. Ткань печени имела эластическую консистенцию, капсула тонкая полупрозрачная, блестящая. На разрезе паренхима органа красно-коричневатого цвета, однородная, неравномерно полнокровны печеночные вены. При микроскопическом исследовании контрольной группы гистархитек-

тоника органа сохранена, балочно-радиарное строение прослеживалось четко. В центральных венах отмечалось умеренное полнокровие, синусоиды были неравномерно расширены. Гепатоциты с эозинофильной зернистой цитоплазмой и округлым базофильным ядром.

У крысят группы сравнения в печени обнаружены: признаки выраженного отёка, полнокровие центральных вен с кровоизлияниями в центре дольки (рис. 1, 2). Гепатоциты в состоянии белковой дистрофии, местами выявлялись очаги некрозов, что вероятнее всего обусловлено влиянием гипоксии.

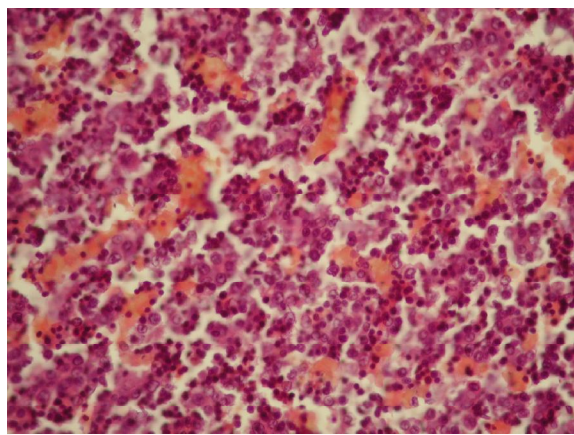


Рис.1. Кровоизлияния, расширение синусоидов и дистрофические изменения в печени крысенок группы сравнения. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$.

В ткани печени крысят от матерей с подострым инфекционно-воспалительным процессом, вызванным *Escherichia coli*, выявлены следующие морфологические изменения: выраженный отёк, гиалиново-капельная дистрофия гепатоцитов, также обнаружена дисконфлексация печеночных балок, во многих клетках ядра мелкие, гиперхромные, цитоплазма вакуолизирована, изредка определяются безъядерные, некротизированные клетки, а также встречаются гепатоциты с более крупными гиперхромными ядрами. В клетках печени отмечается нарастание дистрофических изменений, сопровождающихся выра-

женным отеком стромы.

При морфометрическом исследовании выявлены существенные отличия у крысят, от матерей с инфекцией вызванной *Escherichia coli*, по сравнению с контрольной группой, в частности – увеличение площади гепатоцитов на ($P < 0,05$), их ядер – на ($P < 0,01$), увеличение объема гепатоцитов на ($P < 0,05$), их ядер – на ($P < 0,05$), а также ЯЦИ – на ($P < 0,05$), в то же время выявлено резкое уменьшение плотности гепатоцитов в 1 мм^2 гистологического препарата ткани органа на ($P < 0,01$), что является результатом изменения этих параметров у плодов от крыс основной группы (табл.1, рис. 2). В основной группе увеличены параметры площади и объема гепатоцитов, в то время снижены параметры как площади цитоплазмы, так и её объема.

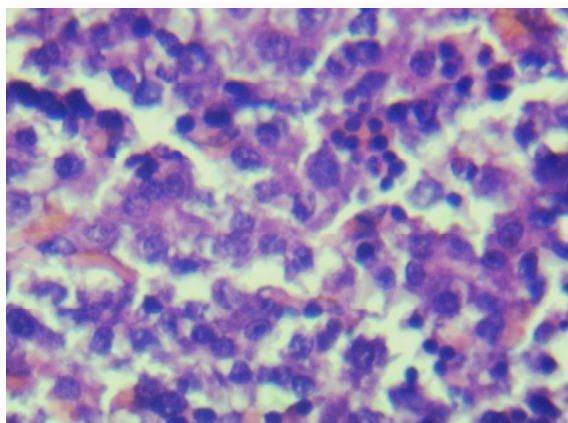


Рис. 2. Выраженные дистрофические изменения, некроз гепатоцитов в печени крысенок основной группы. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 400$.

При морфометрическом исследовании у крысят от матерей с инфекцией, вызванной *Escherichia coli*, по сравнению с группой сравнения выявлены следующие отличия: площадь цитоплазмы меньше на ($P < 0,001$), объем цитоплазмы меньше на ($P < 0,001$). По данным Yan-Ling Yang и его соавторов [10] установили, что увеличение площади и объема цитоплазмы может быть вызвано активизацией метаболических процессов и гиперплазии основных органелл цитоплазмы.

Таблица 1

Морфометрические показатели печени крыс контрольной группы, группы сравнения и основной группы

Параметры	Контрольная группа	Группа сравнения	Основная группа
Площадь клетки, мкм^2	$39,03 \pm 0,9$	$49,22 \pm 1,16^*$	$44,02 \pm 1,03$
Площадь ядра, мкм^2	$19,1 \pm 0,45$	$26,85 \pm 0,63^\#$	$26,32 \pm 0,62^\#$
Площадь цитоплазмы, мкм^2	$19,93 \pm 0,46$	$22,36 \pm 0,52$	$17,69 \pm 0,41^1$
Объем клетки, мкм^3	$187,4 \pm 4,41$	$262,2 \pm 6,18^*$	$222,2 \pm 5,23$
Объем ядра, мкм^3	$64,97 \pm 1,53$	$106,2 \pm 2,5^\#$	$102,6 \pm 2,4^*$
Объем цитоплазмы, мкм^3	$122,4 \pm 2,88$	$155,9 \pm 3,67$	$119,5 \pm 2,81^1$
ЯЦИ	$0,53 \pm 0,01$	$0,71 \pm 0,01^*$	$0,84 \pm 0,01^*$
Плотность клеток на 1 мм^2	$20148,7 \pm 450,5$	$15199,26 \pm 339,8^\#$	$14182,03 \pm 317,1^\#$

Примечание: *- P<0,05; # - p<0,01; ¹- P<0,001

При проведении корреляционного анализа морфометрических показателей было установлено наличие сильной положительной корреляционной связи между показателями площади клетки и площади ядра ($r=+0,95$, $P<0,01$), площади клетки и площади цитоплазмы ($r=+0,88$, $P<0,01$), площади ядра и цитоплазмы ($r=+0,77$, $P<0,05$) у крысят контрольной группы. У плодов от крыс основной группы сильная положительная корреляционная связь между показателями площади клетки и площади ядра ($r=+0,80$, $P<0,05$), площади клетки и цитоплазмы ($r=+0,84$, $P<0,05$), а статистически достоверная связь между площадью ядра и цитоплазмы отсутствует.

Заклучение

При инфицировании матери *Escherichia coli* в печени потомства развиваются альтеративные изменения, проявляющиеся дистрофией и некробиозом гепатоцитов, нарушением балочного строения печеночных долек на фоне умеренно выраженных компенсаторно-адаптационных процессов.

Перспективой дальнейшего исследования является проведение морфометрических, иммуногистохимических исследований печени плодов людей подвергшихся влиянию ХВГ, и от матерей с инфекционной патологией, вызванной *Escherichia coli*.

Литературные источники References

1. Kolyachenko ES, Mihailov AV, Chesnokova NP. [Modern views on etiology, risk factors, pathogenesis of intrauterine fetal infection. Report 1. Value of infectious pathogenic factors in development of intrauterine fetal infection. Ways of distribution of the infection]. *Modern science success*. 2003;(9):15-9. Russian.

2. Markovsky VD, Sorokina IV, Miroshnichenko MS, Pliten ON. [Influence of chronic intrauterine hypoxia and infectious pathology of mother on newborn somatometric indicators (Experimental research)]. *Health - the basis of human development: Problems and Solutions*. 2014;2(9):660-2. Ukrainian.

3. Fedorova JP, Minullina NK. [The role of opportunistic pathogenic microflora and microbial associations in infecting the birth canal]. *Kazan Medical Journal*. 2011;92(1):112-6. Kazan.

4. Pliten ON. [Influence of chronic antenatal hypoxia and maternal chronic infectious diseases of various organs and systems on histological features of fetus and newborn thymus]. *Eksperymentalna i klinichna medytsyna*. 2015; (2):38-43. Russian.

5. Sorokina IV, Miroshnichenko MS, Pliten ON, Miroshnichenko SA. [Influence of mothers in-

fectious diseases on the organs and system of fetus and newborn]. *Health - the basis of human development: Problems and Solutions*. 2013;(1): 264-6. Ukrainian.

6. Kirilochev OK. [Neonatal liver insufficiency - criteria of severity]. *Pediatrics*. 2008;87(3):57-61. Russian.

7. Tkachenko AV, Gubin-Vakulik GI. [Morphological and functional changes in the liver of rats under experimental hypokinesia]. *Bukovinian Medical Herald*. 2006;10(2):111-4. Ukrainian.

8. Markovskiy VD, Sorokina IV, Hubina-Vakulyk HI, Omelchenko OA, Kykhtenko OV, Miroshnychenko MS, Pliten OM, inventors; Kharkiv national medical university, assignee. [Method of simulating prenatal hypoxia with newborn asphyxia in labor]. *Ukraine patent UA 88459*. 2014 Mar 11. *Int. Cl. G09B 23/28*. Ukrainian.

9. Lapach SK, Chubenko AV, Babich PN. [Statistical methods in biomedical studies using Exel]. Kyiv: Morion; 2001. 408 p. Ukrainian.

10. Yang YL, Dou KF, Li KZ. Influence of intrauterine injection of rat fetal hepatocytes on rejection of rat liver transplantation. *World J Gastroenterol*. 2003 Jan;9(1):137-40.

Марковский В.Д., Сакал А.А. Морфофункціональний стан печінки потомства від матерів, інфікованих *Escherichia coli* (експериментальне дослідження).

Резюме: Внутрішньоутробна інфекція шкідливо діє на печінку плодів. З метою виявлення морфофункціонального стану печінки плодів щурів, інфікованих *Escherichia coli*, ми провели експерименти: моделювання хронічної внутрішньоутробної гіпоксії (ХВГ) і моделювання інфекції. Експериментальний матеріал був розділений на три групи: контрольну, групу порівняння - ХВГ і основну групу - інфікованих *Escherichia coli*. Внутрішньоутробне інфікування і гіпоксія плоду, обумовлюють розвиток альтеративних змін, які проявляються дистрофією і некробиозом гепатоцитів, порушенням балкової будови печінкових часточок на тлі помірно виражених компенсаторно-адаптаційних процесів.

Ключові слова: внутрішньоутробна інфекція, вагітність, печінка, щури, плід.