

**ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ВНУТРИУТРОБНОЙ ГИПОКСИИ  
НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ  
ПОТОМСТВА КРЫС****Харьковский национальный медицинский университет (г. Харьков)****sakal\_anna@ukr.net**

Данная работа является фрагментом НИР: «Вплив плодово-материнської інфекції на ембріогенез та фетогенез нащадків (клініко-морфологічне дослідження)», № государственной регистрации 0115U000987.

**Вступление.** Гипоксия пренатального периода оказывает выраженное негативное влияние на плод, следствием которого является развитие плацентарной недостаточности, задержка внутриутробного развития и, как результат, – снижение выживаемости. Кислородная недостаточность в период беременности снижает адаптационные возможности в постнатальном периоде и повышает риск рождения физиологически незрелого и отстающего в развитии новорожденного [1].

Основной компенсаторно-приспособительной реакцией организма плода, которая способствует меньшему повреждению его тканей при недостатке кислорода, является усиление процессов анаэробного гликолиза. В результате этого происходит уменьшение количества гликогена и накопление кислых продуктов обмена в печени, сердце, мозге, мышцах и крови плода, что приводит к метаболическому или респираторно-метаболическому ацидозу, что приводит к структурным изменениям в различных органах [4]. Морфологические изменения не исчезают после рождения плода, а сохраняются тем дольше, чем более тяжелую гипоксию перенес плод, определяя развитие ребенка в дальнейшем [6].

По данным литературы известно о многочисленных исследованиях печени плодов от матерей, беременность которых была осложнена различными патологическими состояниями, например, железодефицитной анемией, сахарным диабетом, эклампсией и прееклампсией [9,10,11,12,13]. Известно также об эксперименте с повреждением печени плодов крыс при хронической внутриутробной нитритной гипоксии [13]. В то же время токсическое действие соединения, используемого как фактор, повреждающий печень, связано с метгемоглобинообразующим эффектом, развитием гемической гипоксии, которые имеют свои механизмы патогенеза внутриутробной задержки развития плода, а значит и морфологические особенности в исследуемом органе.

Однако, необходимо отметить, что данные литературы о влиянии ХВГ на гепатобиллиарную систему плодов и новорожденных в большинстве случаев имеют клиническую направленность и не описаны морфологически. Всё это обуславливает актуальность и необходимость настоящего исследования [2,3].

**Цель исследования.** Выявить морфофункциональные особенности печени у плодов, подвергшихся влиянию хронической внутриутробной гипоксии.

**Объект и методы исследования.** На базе экспериментальной биологической клиники Харьковского национального медицинского университета был проведен эксперимент с использованием крыс популяции WAG. 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). Материалом для исследования послужила ткань печени доношенных плодов от здоровых лабораторных крыс линии WAG с физиологическим течением беременности (контрольная группа) и ткань печени плодов страдавших хронической внутриутробной гипоксией (группа сравнения). В контрольную группу вошли 9 плодов от крыс с физиологической беременностью, группу сравнения составили 7 плодов от крыс, страдавших ХВГ. При моделировании ХВГ беременные крысы на протяжении 21 дня беременности подвергались ежедневному кислородному голоданию (высокогорной гипоксии), в дальнейшем самки выводились из эксперимента на поздних сроках гестации с извлечением плодов для дальнейшего исследования.

Для создания высокогорной гипоксии использовалась герметичная барокамера, из которой выкачивали воздух и создавали условия резкого уменьшения атмосферного давления. 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. [7]. Для морфологического исследования из ткани печени вырезались кусочки, фиксировались в 10% растворе нейтрального формалина. Затем материал подвергался стандартной проводке. После чего из-

готавлялись серийные срезы толщиной 5-6 мкм на микротоме Microm HM 340. Препараты печени окрашивались гематоксилином и эозином, пикрофуксином по методу ванн Гизон, по методу Маллори. С помощью микроскопа Olympus BX-41 (Япония) с использованием программ Olympus-DP-Soft (Version 3:1) и Microsoft Excel проводили комплекс морфологических и морфометрических исследований. Каждый исследуемый случай подвергался обзорной микроскопии, при которой оценивался общий характер строения печени, особенности стромального и паренхиматозного компонентов, состояние микроциркуляторного русла, наличие или отсутствие очагов кроветворения, наличие или отсутствие вторичных изменений (кровоизлияния, некроз, воспаление, склероз). Для оценки уровня морфофункциональной активности гепатоцитов на препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, выполняли морфометрическое исследование, 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 1 мм<sup>2</sup>.

Полученные данные обрабатывались методами математической статистики с использованием вариационного и корреляционного анализов. При использовании методов вариационной статистики вычисляли среднюю арифметическую, среднеквадратическое отклонение, ошибку среднего, коэффициент вариации, минимальное и максимальное значение. Для определения достоверности результатов использовали критерий Манна Уитни, для проведения корреляционного анализа использовали коэффициент корреляции Спирмена [5].

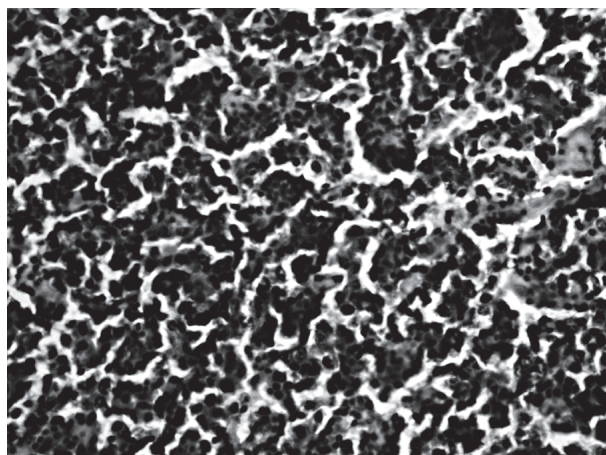
### Результаты исследования и их обсуждение.

При макроскопическом исследовании печени крысят обеих групп не выявлено существенной разницы. Печень имела эластическую консистенцию, покрывающая её капсула тонкая полупрозрачная, блестящая. На разрезе паренхима органа красно-коричневато-го цвета, однородная, печеночные вены развиты правильно, неравномерно полно-

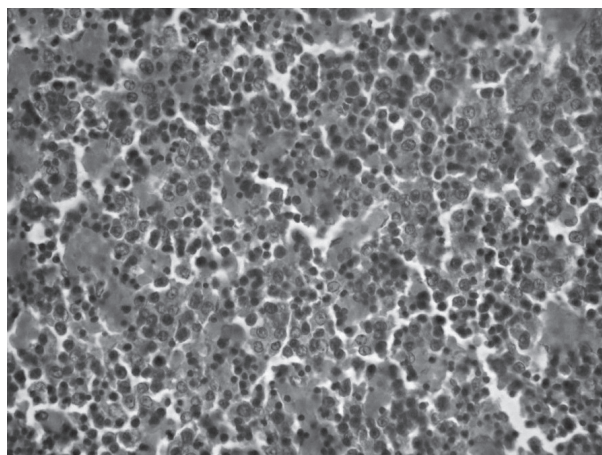
кровны. Микроскопически в печени контрольной группы гистоархитектоника сохранена, балочно-радиарное строение прослеживалось четко. В центральных венах отмечалось умеренное полнокровие, синусоиды были неравномерно расширены. Гепатоциты с эозинофильной зернистой цитоплазмой и округлым базофильным ядром (**рис. 1**).

В печени плодов от крыс, страдавших ХВГ, портальные тракты расширены вследствие выраженного отека. Наблюдается выраженное полнокровие центральных вен с множественными кровоизлияниями в паренхиме печени. Гепатоциты в состоянии дистрофических изменений, с очагами некрозов. Выше указанное вероятнее всего, обусловлено влиянием гипоксии печени, проявляющейся масштабными дистрофическими и некротическими изменениями в паренхиме, фиброзом портальных трактов, усугубляющим тканевую гипоксию с деструкцией паренхимы печени [9, 10] (**рис. 2**).

При морфометрическом исследовании выявлены существенные отличия у крысят с хронической внутриутробной гипоксией по сравнению с контрольной группой, в частности – увеличение площади гепатоцитов на 26,10% ( $P < 0,05$ ), их ядер – на 40,63% ( $P < 0,01$ ), объема этих же клеток на 39,88% ( $P < 0,05$ ), их ядер – на 63,48% ( $P < 0,01$ ), а также ЯЦИ – на 31,48% ( $P < 0,05$ ), в то же время, уменьшение плотности гепатоцитов в 1 мм<sup>2</sup> гистологического препарата ткани органа в 24,56% ( $P < 0,01$ ), что является результатом изменения этих параметров у плодов от крыс страдавших хронической внутриутробной гипоксией. Так, в группе сравнения увеличение площади и объёма клетки происходит в результате увеличения как площади цитоплазмы так и её объёма цитоплазмы. Данный факт, по нашему мнению, можно объяснить завершением процессов дифференцировки гепатоцитов, развитием основных клеточных органелл, участвующих в синтетических и энергетических процессах (митохондрии, рибосомы, полисомы, гранулярный эндоплазматический ретикулум, комплекс Гольджи), которые располагаются в цитоплазме [8].



**Рис. 1.** Четкое балочно-радиарное строение печени у крысенка контрольной группы. Окраска гематоксилином и эозином, X 400.



**Рис. 2.** Отек, очаговые кровоизлияния и дистрофические изменения в печени крысенка основной группы. Окраска гематоксилином и эозином, X. 400.

**Морфометрические показатели печени крыс группы контроля и группы сравнения**

Параметры	Группа контроля	Группа сравнения
Площадь клетки мкм <sup>2</sup>	39,03±0,9	49,22±1,16 <sup>1</sup>
Площадь ядра мкм <sup>2</sup>	19,1±0,45	26,85±0,63 <sup>#</sup>
Площадь цитоплазмы мкм <sup>2</sup>	19,93±0,46	22,36±0,52
Объем кл мкм <sup>3</sup>	187,4±4,41	262,2±6,18 <sup>1</sup>
Объем ядра мкм <sup>3</sup>	64,97±1,53	106,2±2,5 <sup>#</sup>
Объем цитоплазмы мкм <sup>3</sup>	122,4±2,88	155,9±3,67
ЯЦИ	0,53±0,01	0,71±0,01 <sup>1</sup>
Плотность клеток на 1 мм <sup>2</sup>	20148,7±450,5	15199,26±339,8 <sup>#</sup>

**Примечание:** <sup>1</sup> - P < 0,05; # - p < 0,01 по сравнению с группой контроля.

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, страдавших хронической внутриутробной гипоксией есть сильная положительная корреляционная связь между показателями площади клетки и площади ядра ( $r = +0,89$ ,  $P < 0,05$ ), площади клетки и цитоплазмы ( $r = +0,89$ ,  $P < 0,05$ ), а статистически достоверная связь между площадью ядра и цитоплазмы отсутствует (**табл.**).

**Выводы**

1. Под влиянием хронической внутриутробной гипоксии в печени плодов увеличена площадь гепатоцитов, их ядер и цитоплазмы, объем клеток, их ядер и цитоплазмы, а также ЯЦИ, на фоне уменьшенной плотности гепатоцитов в 1 мм<sup>2</sup> гистологического препарата ткани органа.

2. Хроническая внутриутробная гипоксия приводит к выраженным альтеративным, сосудистым и склеротическим изменениям в печени плода.

3. Проведенное исследование свидетельствует о том, что хроническая внутриутробная гипоксия является мощным повреждающим фактором для печени плода.

**Перспективы дальнейших исследований**

В будущем необходимо осуществить иммуногистохимическое исследование печени плодов от крыс для изучения пролиферативной активности клеток печени (Ki-67), и степени выраженности апоптоза гепатоцитов (BCL-II).

**Литература**

1. Влияние различных вариантов гипоксии на количество крысят в помёте и на их соматические показатели (экспериментальное исследование) / В.Д. Марковский, И.В. Сорокина, М.С. Мирошниченко, О.Н. Плитень, А.С. Шапкин // Экспериментальна і клінічна медична. – 2014. – № 3 (64). – С. 91-94.
2. Еникеева Ю.Д. Влияние способа родоразрешения на процессы постнатальной адаптации новорожденных детей / Ю.Д. Еникеева, Э.Н. Ахмадеева // Медицинский вестник Башкортостана. – 2011. – Т.6. – № 5. – С. 145-150. – Режим доступа к статье: <http://cyberleninka.ru/article/n/vliyanie-sposoba-rodorazresheniya-na-protsessy-postnatalnoy-adaptatsii-novorozhdennyh-detey>.
3. Изучение влияния хронической гипоксии на течение беременности и развитие потомства в эксперименте / И.Ю. Карпова, В.В. Паршиков, А.А. Миронов [и др.] // Медицинский альманах. – 2011. – № 6 (19). – С. 55-57.
4. Кондратьева М.В. Состояние центральной гемодинамики у здоровых новорожденных детей и перенесших гипоксию / М.В. Кондратьева, Ф.П. Романюк // Вестник Санкт-Петербургского университета. – 2008. – Сер. 11, Вып. 4. – С. 181-189.
5. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – К.: Морион, 2000. – 320 с.
6. Липатов И.С. Оценка степени тяжести плацентарной недостаточности у беременных / И.С. Липатов, В.А. Мельников, Ю.В. Тезиков // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2008. – № 5. – С. 38-43.
7. Пат. на корисну модель 88459 Україна, МПК G09B 23/28. Спосіб моделювання внутрішньоутробної гіпоксії з асфіксією новонародженого в пологах / В.Д. Марковський, І.В. Сорокіна, Г.І. Губіна-Вакулик, О.А. Омельченко, О.В. Кихтенко, М.С. Мирошниченко, О.М. Плітень (UA). – № у 2013 13681; заявл. 25.11.2013; опубл. 11.03.2014. Бюл. № 5.
8. Пономарёв Б.Л. Дифференцировка гепатоцитов человека в эмбриогенезе и ранние периоды фетогенеза / Б.Л. Пономарёв, Л.Е. Обухова, Ю.А. Высоцкий [и др.] // Сибирское медицинское обозрение. – 2011. Т. 67, № 1. – режим доступа к журналу: <http://cyberleninka.ru/article/n/differentsirovka-gepatotsitov-cheloveka-v-embriogeneze-i-rannie-periody-fetogeneza>.
9. Проценко Е.С. Влияние преэклампсии матери на макрофагальную систему печени плода и новорожденного / Е.С. Проценко // Харьковская хирургическая школа. – 2011. – № 5 (50). – С. 44-47.
10. Проценко Е.С. Патологическая анатомия пищеварительной системы плодов и новорожденных от матерей с осложненной беременностью: дис. ... Доктора мед. наук: 14.03.02 / Е.С. Проценко. – Харьков, 2013. – 250 с.
11. Согуйко Ю.Я. Ультроструктурные особенности печени крысы в норме и экспериментальном сахарном диабете на ранних стадиях его течения в динамике / Ю.Р. Согуйко, Ю.Я. Кривко // Экспериментальная и клиническая физиология и биология. – 2010. – № 4. – С. 12-19.
12. Сорокина И.В. Морфологические особенности печени плодов от матерей с железодефицитной анемией / И.В. Сорокина, Е.С. Проценко // Запорожский. мед. журн. – 2007. – № 9. – С. 27-30.
13. Черкасова Д.У. Функциональные изменения в системе мать-плод при экспериментальной хронической нитритной гипоксии / Д.У. Черкасова, Д.Н. Магомедгаджиева, А.И. Рабаданова // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2009. – Т. 11, № 1 (5). – С. 934-937.



УДК: 612.359-053.31:618.2:57.084.1

### ВПЛИВ ХРОНІЧНОЇ ВНУТРІШНЬОУТРОБНОЇ ГІПОКСІЇ НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ПЕЧІНКИ НАЩАДКІВ ЩУРІВ

Марковський В. Д., Сакал Г. О.

**Резюме.** Хронічна внутрішньоутробна гіпоксія (ХВГ) займає лідируючу позицію серед чинників, що надають шкідливу дію на гепатобіліарну систему плодів. З метою виявлення морфофункціонального стану печінки плодів щурят, що підпали під вплив ХВГ, нами був проведений експеримент. Вагітні щури протягом 21 діб вагітності піддавалися щоденному кисневому голодуванню (високогірній гіпоксії), далі самки виводилися з експерименту, шляхом передозування тиопенталу натрію і подальшої декапітації. Плоди вивчалися для подальшого дослідження. Весь експериментальний матеріал був розділений на дві групи: контрольну і групу порівняння – хронічної внутрішньоутробної гіпоксії. Далі ми проводили комплекс морфологічних досліджень: вимірювали площу ядра, цитоплазми, клітини в цілому, обсяги ядра, цитоплазми, клітини, ядерно-цитоплазматичний індекс (ЯЦІ), а також підраховували щільність розташування гепатоцитів в 1 мм<sup>2</sup>. Отримані дані оброблялися методами математичної статистики. При аналізі експериментального матеріалу, встановлено, що виявлені особливості будови клітин печінки плодів є морфологічним підтвердженням впливу ХВГ на закладку і формування органу на ранніх етапах внутрішньоутробного життя, що може проявитися в подальшому онтогенезі розвитком функціональної недостатності печінки.

**Ключові слова:** печінка, щури, нащадки, хронічна внутрішньоутробна гіпоксія.

УДК: 612.359-053.31:618.2:57.084.1

### ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ВНУТРИУТРОБНОЙ ГИПОКСИИ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ ПОТОМСТВА КРЫС

Марковский В. Д., Сакал А. А.

**Резюме.** Хроническая внутриутробная гипоксия (ХВГ) занимает лидирующую позицию среди факторов, оказывающих повреждающее действие на гепатобилиарную систему плодов. С целью выявления морфофункционального состояния печени плодов крысят, подвергшихся влиянию ХВГ, нами был проведен эксперимент. Беременные крысы на протяжении 21 дня беременности подвергались ежедневному кислородному голоданию (высокогорной гипоксии), далее самки выводились из эксперимента, путем передозировки тиопентала натрия и последующей декапитации. Плоды извлекались для дальнейшего исследования. Весь экспериментальный материал был разделён на две группы: контрольную и группу сравнения – хронической внутриутробной гипоксии. Далее мы проводили комплекс морфологических исследований: измеряли площадь ядра, цитоплазмы, клетки в целом, объёмы ядра, цитоплазмы, клетки, ядерно-цитоплазматический индекс (ЯЦИ), а также подсчитывали плотность расположения гепатоцитов в 1 мм<sup>2</sup>. Полученные данные обрабатывались методами математической статистики. При анализе экспериментального материала, установлено, что обнаруженные особенности строения клеток печени плодов являются морфологическим подтверждением влияния ХВГ на закладку и формирование органа на ранних этапах внутриутробной жизни, что может проявиться в дальнейшем онтогенезе развитием функциональной недостаточности печени.

**Ключевые слова:** печень, крысы, потомство, хроническая внутриутробная гипоксия

UDC: 612.359-053.31:618.2:57.084.1

### IMPACT OF CHRONIC INTRAUTERINE HYPOXIA ON MORPHOFUNCTIONAL STATE OF RATS' FETUSES

Markovskiy V. D., Sakal G. O.

**Abstract.** Hypoxia of prenatal period has a significant negative impact on fetus, resulting in development of placental insufficiency, intrauterine growth retardation, and as a result – reduced survival. Oxygen deficiency during pregnancy reduces the adaptive capabilities in the postnatal period and increases risk of birth physiologically immature newborn.

According to the literature there are many studies of fetuses' liver from mothers whose pregnancy was complicated by a variety of pathological conditions, such as iron deficiency anemia, diabetes, eclampsia and pre-eclampsia. We also know about the experiment with damage of rats' fetuses liver with chronic fetal nitrite hypoxia. But the toxic effect of used compound as damaging factor due to the development of hemic hypoxia, which have their mechanisms of pathogenesis intrauterine fetal growth, and hence morphological features in testing organ.

However, it should be noted that the literature, in which written about effect of chronic intrauterine hypoxia on fetuses and newborns hepatobiliary system in most cases have clinical direction and no morphologically described. All this determines the relevance and necessity of this research.

Chronic intrauterine hypoxia (CIUH) takes leading position among factors that have damaging effect on fetus liver. In order to determine morpho-functional state of fetal liver of rats, who had exposed to the influence of CIUH, we conducted experiment.

Pregnant rats over 21 days of gestation were subjected to daily hypoxia (high altitude hypoxia), then the females were removed from the experiment, by an overdose of sodium thiopental followed by decapitation. Fetuses were removed for further study. All the experimental data was divided into two groups: the control group and the comparison group – chronic intrauterine hypoxia. Next, we performed a set of morphological studies: measured nucleus area, cytoplasm, cells in general, the volume of the nucleus, the cytoplasm, cells nucleocytoplasmic

index and calculated density of hepatocyte location 1 mm<sup>2</sup>. The data were processed by methods of mathematical statistics.

In gross examination of rats liver of both groups revealed no significant differences. The liver had elastic consistency, thin translucent shiny capsule is covering organ. Organ parenchyma had red-brown color; homogeneous, hepatic veins are developed correctly, evenly congested. Microscopically in the control group liver structure is saved and can be clearly seen. In central veins is observed moderate hyperemia, sinusoid were unevenly expanded. The hepatocytes had eosinophilic granular cytoplasm and round basophilic nucleus.

The fetuses, whose mothers were suffered from CIUH, in portal tracts had edema. There is a marked congestion of central vein with multiple hemorrhages in the liver parenchyma. Hepatocytes are able to degenerative changes, with areas of necrosis. It is likely due to the influence of liver hypoxia, manifested dystrophic and necrotic changes in the parenchyma, fibrosis of the portal tracts, aggravating tissue hypoxia with the destruction of the liver parenchyma.

In the analysis of experimental data, we found that the observed features of the liver structure of fetuses are morphological evidence of the impact of chronic intrauterine hypoxia and formation of the organ in early stages of fetal life that may occur development of functional liver failure in future.

Under the influence of chronic intrauterine hypoxia in fetal liver hepatocytes were increased area of their nuclei and cytoplasm, cell volume, their nuclei and cytoplasm, and cells nucleocytoplasmic index, amid reduced hepatocytes density of 1 mm<sup>2</sup> histological organ tissue preparation.

Chronic intrauterine hypoxia leads to severe alterative, vascular and sclerotic changes in the fetal liver.

The study suggests that chronic intrauterine hypoxia is a powerful damaging factor for fetal liver.

**Keywords:** liver, rat, offspring, chronic fetal hypoxia.

*Рецензент – проф. Старченко І. І.*

**Стаття надійшла 03.03.2016 року**