

УДК 612.359-053.31:618.2:57.084.1

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПЕЧЕНИ ПЛОДОВ ОТ МАТЕРЕЙ С ПОДОСТРЫМ ИНФЕКЦИОННО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМ ПРОЦЕССОМ В БРЮШНОЙ ПОЛОСТИ, ВЫЗВАННЫМ *KLEBSIELLAE PNEUMONIA*, И ПЛОДОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ ВНУТРИУТРОБНОЙ ГИПОКСИЕЙ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Марковский В.Д., Сакал А.А.

Харьковский национальный медицинский университет, кафедра патологической анатомии, г. Харьков, Украина, ORCID ID: 0000-0002-2237-3639, ORCID ID: 0000-0002-1648-0585, e-mail: Sakal\_anna@ukr.net

**Резюме.** Целью исследования было в эксперименте на животных изучить и сравнить особенности морфофункционального состояния печени плодов с хронической внутриутробной гипоксией (ХВГ) и плодов от матерей с подострым инфекционно-воспалительным процессом в брюшной полости, вызванным *Klebsiella pneumoniae*. В ходе исследования проведены эксперименты на крысах линии WAG по моделированию подострого инфекционно-воспалительного процесса в брюшной полости, вызванного *Klebsiella pneumoniae*, и хронической внутриутробной гипоксии. Материалом исследования послужила печень плодов, изученная с помощью гистологических, иммуногистохимических и морфометрических методов. Полученные данные свидетельствуют о том, что у плодов крыс от матерей с пролонгированной инфекцией, вызванной *Klebsiella pneumoniae*, и у плодов с ХВГ в печени наблюдаются однотипные изменения в виде полнокровия центральных вен и синусоидов, нарушения балочного строения печеночной дольки, дистрофии и некроза гепатоцитов с регенераторным усилением пролиферативной активности печеночных клеток, развитием их компенсаторной гипертрофии и стимуляцией синтеза интерстициальных коллагенов. У плодов от матерей с пролонгированной клебсиеллезной инфекцией по сравнению с плодами с ХВГ степень выраженности дисциркуляторных изменений, альтеративных процессов в паренхиматозном компоненте печени нарастает, что сопровождается снижением функциональной активности гепатоцитов и усилением склеротических изменений в стромальном компоненте органа, что может привести к срыву адаптационных возможностей печени в дальнейшем онтогенезе.

**Ключевые слова:** морфология, печень, плод, внутриутробное инфицирование, гипоксия.

**Вступление.** По данным ВОЗ почти 45% всех случаев смерти детей в возрасте до пяти лет приходится на долю новорожденных, грудных детей в первые 28 дней жизни или на неонатальный период. Основными причинами смерти почти у 80% умерших новорожденных служат преждевременные роды и низкая масса тела при рождении, инфекции, асфиксия и родовые травмы [1]. Наличие у беременной женщины латентной, хронической инфекции является существенной причиной возникновения осложнений во время беременности и родов и ведет к широкому спектру перинатальной патологии. Персистирующая инфекция в организме у женщины (хронические инфекционные заболевания верхних дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта, мочеполовой системы и т.д.) ответственна за ряд таких осложнений, как преждевременное излитие околоплодных вод, невынашивание беременности, хориоамнионит, внутриутробное инфицирование плода (ВУИ) [2,3]. По частоте встречаемости в перинатальном периоде ВУИ занимает второе место, а в структуре перинатальной смертности инфицированные плоды занимают 1-3 место, составляя

от 11% до 45% умерших [4,5]. В антенатальном периоде ВУИ обуславливает формирование инфекционной патологии плода, врожденных пороков развития, фетоплацентарной недостаточности, хронической внутриутробной гипоксии и задержки внутриутробного развития плода, что может сопровождаться недоношенностью и антенатальной гибелью плода [6].

**Обоснование исследования.** В настоящее время из-за неконтролируемого использования антибактериальных препаратов, местных гормональных контрацептивов, вредных условий труда и факторов окружающей среды, на первое место у женщин постепенно выходят условно-патогенные инфекции, а одними из ведущих возбудителей ВУИ плода являются грамотрицательные факультативно анаэробные бактерии, среди которых наибольший интерес вызывает клебсиеллез в связи с его высокой частотой встречаемости, тяжестью протекания и частотой летальных исходов в перинатальном периоде [7].

Трансплацентарно часть возбудителей по пупочной вене попадает в организм плода, что может сопровождаться развитием как местной, так и генерализованной инфекции с поражением внутренних органов, в том числе печени [8,9,10]. В связи с физиологической незрелостью печени у плодов, обусловленной становлением функциональных систем, в дальнейшем онтогенезе может наблюдаться как эндокринная, так экзокринная дисфункция органа с нарушением обменных процессов и защитных реакций организма, что обуславливает необходимость детального изучения патоморфологических особенностей печени потомства от матерей с клебсиеллезом.

**Цель исследования** – в эксперименте на животных изучить особенности морфофункционального состояния печени плодов от матерей с подострым инфекционно-воспалительным процессом в брюшной полости, вызванным *Klebsiella pneumoniae*.

**Методы исследования.** Исследование проведено в рамках научно-исследовательской работы кафедры патологической анатомии Харьковского национального медицинского университета «Вплив плодово-материнської інфекції на ембріогенез та фетогенез нащадків (клініко-морфологічне дослідження)» (№ государственной регистрации 0115U000987).

Работа выполнена на крысах линии WAG на базе экспериментальной биологической клиники Харьковского национального медицинского университета со строгим соблюдением требований Европейской конвенции (Страсбург, 1986) по содержанию, кормлению и уходу за подопытными животными, а также выведению их из эксперимента и последующей утилизации. Материалом для морфологического исследования послужила печень 26 плодов крыс, которые были разделены на 3 группы: контрольную (КГ), экспериментальную (ЭГ) и группу сравнения (ГС). КГ (n=9) – плоды от беременных

самок крыс с физиологически протекавшей беременностью. ЭГ (n=10) – плоды от беременных самок крыс с подострым инфекционно-воспалительным процессом в брюшной полости, моделированным с использованием референс-штаммов *Klebsiella pneumoniae* (NCTC 5055) [11]. Поскольку ВУИ плода часто сопровождается фетоплацентарной недостаточностью и хронической внутриутробной гипоксией плода (ХВГ) [12], группу сравнения (n=7) составили плоды с ХВГ от беременных самок крыс, которые на протяжении всей беременности подвергались ежедневной высокогорной гипоксии [13]. Самки крыс всех групп выводились из эксперимента на 20-е сутки беременности. Забор, фиксация материала и изготовление парафиновых блоков осуществлялись в соответствии с общепринятыми методиками. Изготавливали серийные поперечные срезы, толщиной 4-6 мкм с последующим окрашиванием гематоксилином и эозином. Для иммуногистохимического метода исследования применяли непрямой метод Кунса в модификации Brosman M. [14]. С помощью моноклональных антител (МКАт) к коллагенам I, III типов фирмы Novocastra Laboratories Ltd, UK выявляли интерстициальные коллагены. Препараты изучали в люминисцентном микроскопе «Axioskop 40» (Carl Zeiss, ФРГ). Путем видеомикроскопической морфометрии с использованием программы «Olympus DP-soft version 3.1» Microsoft Excel в гепатоцитах определяли площадь и объемы ядра, цитоплазмы и клетки в целом, определяли ядерно-цитоплазматический индекс (ЯЦИ), подсчитывали плотность расположения гепатоцитов в 1мм<sup>2</sup>. В препаратах, обработанных МКАт, определяли интенсивность свечения в условных единицах свечения (усл. ед. св.) [11]. Все данные обрабатывались методами математической статистики с использованием вариационного и

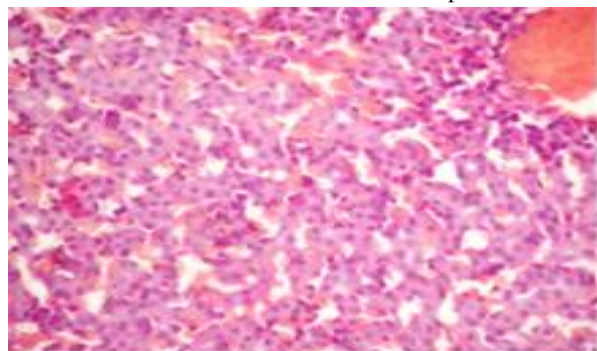


Рис. 1. Нормальная гистоархитектоника печеночной дольки, немногочисленные купферовские клетки в синусоидах, мелкие очаги экстрамедуллярного кроветворения в периваскулярном пространстве центральной вены. КГ, окраска гематоксилином и эозином, x400

корреляционного анализ. Для определения достоверности результатов использовали критерий Манна-Уитни-Уилкоксона, для проведения корреляционного анализа использовали коэффициент корреляции Спирмена.

**Результаты исследования.** Микроскопически печень плодов крыс КГ характеризовалась сохраненной гистоархитектоникой с четким балочно-радиарным строением, умеренным кровенаполнением центральных вен и неравномерно выраженными просветами синусоидов. Гепатоциты полигональной формы со слабо эозинофильной цитоплазмой и центрально расположенным округлым умеренно базофильным ядром, встречались отдельные двуядерные клетки. В синусоидах визуализировались отдельные купферовские клетки. В периваскулярном пространстве центральных вен обнаруживались небольшие скопления кроветворных клеток (рис.1). Морфометрические показатели печени плодов КГ представлены в таблице 1.

В ГС отмечалось нерезко выраженное нарушение балочно-радиарного строения с нарушением гистоархитектоники органа. По сравнению с КГ наблюдалось выраженное полнокровие центральных вен долек и расширенных синусоидов в центральных отделах долек. В последних визуализировались мелкоочаговые некрозы клеток и многочисленные двуядерные гепатоциты. Печеночные клетки периферии долек были укрупнены, часть из них с признаками жировой дистрофии с наличием в цитоплазме оптически пустых вакуолей и смещением ядра к клеточной мембране. Купферовские клетки немногочисленны. Вокруг центральных вен и диффузно в дольках выявлялись очаги экстрамедуллярного кроветворения (рис.2). Морфометрические показатели печени плодов ГС представлены в таблице 1.

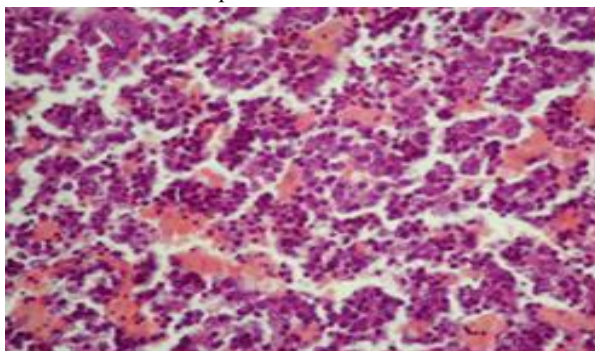


Рис. 2. Нарушение балочного строения печеночной дольки, мелкоочаговые некрозы гепатоцитов, многочисленные двуядерные гепатоциты, диффузно-очаговое экстрамедуллярное кроветворение. ГС, окраска гематоксилином и эозином, x400

Таблица 1

Морфометрические показатели печени плодов крыс исследуемых групп, (M±m)

Параметры	Исследуемые группы			Уровень значимости разницы	
	КГ	ГС	ЭГ	Сравниваемые группы	
				КГ и ЭГ	ГС и ЭГ
Плотность клеток, экз/мм <sup>2</sup>	20148,7±450,5	15199,26±339,8	10671,07±238,6	P<0,05	P<0,05
Площадь клетки, мкм <sup>2</sup>	39,03±0,9	49,22±1,16	41,18±0,971	P<0,05	неопр
Площадь ядра, мкм <sup>2</sup>	19,1±0,45	26,85±0,63	26,40±0,62	P<0,05	P>0,05
Площадь цитоплазмы, мкм <sup>2</sup>	19,93±0,46	22,36±0,52	14,77±0,34	P<0,05	P<0,05
Объем клетки, мкм <sup>3</sup>	187,4±4,41	262,2±6,18	199,7±4,41	P<0,05	P<0,05
Объем ядра, мкм <sup>3</sup>	64,97±1,53	106,2±2,5	102,6±2,4	P<0,05	P>0,05
Объем цитоплазмы, мкм <sup>3</sup>	122,4±2,88	155,9±3,67	97,07±2,282	P<0,05	P<0,05
ЯЦИ	0,53±0,01	0,71±0,01	1,10±0,02	P<0,05	P<0,05

Уровни значимой разницы: P<0,05 – достоверно; P>0,05 – недостоверно; – зона неопределенности

В ткани печени крысят ЭГ отмечалось более выраженное по сравнению с ГС нарушение гистоархитектоники с дисконкомплексацией печеночных балок. Визуализировалось выраженное полнокровие центральных вен и прилегающих синусоидов, местами с очаговыми кровоизлияниями. Во всех отделах дольки визуализировались печеночные клетки с признаками гидропической, реже жировой дистрофии, часть гепатоцитов с размытыми границами и пикнозом или лизисом ядер. Встречались мелкоочаговые некрозы паренхиматозных клеток, вокруг которых визуализировались многочисленные купферовские клетки, которые местами формировали мелкие скопления. Встречались отдельные группы укрупненных гепатоцитов с увеличенными одним или двумя гипо- или гиперхромными ядрами. (рис. 3). Сохранились признаки распространенного экстрамедуллярного кроветворения в ткани печени. Морфометрические показатели печени плодов ЭГ представлены в таблице 1.

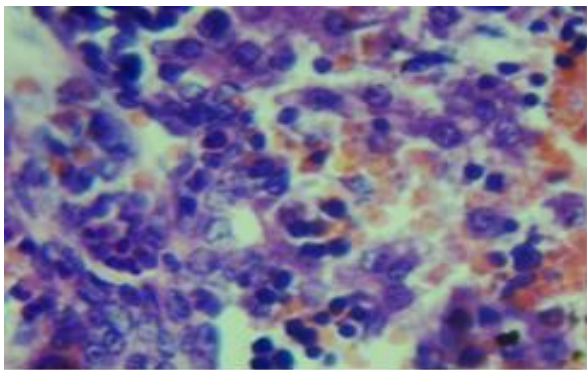


Рис. 3. Дисконкомплексация печеночных балок дольки печени, гидропическая дистрофия гепатоцитов, гипохромия ядер, пролиферация купферовских клеток в синусоидах. ЭГ, окраска гематоксилином и эозином, х 600

При анализе данных таблицы 1 в ГС по сравнению с КГ отмечается достоверное снижение плотности гепатоцитов ( $P < 0,05$ ), достоверное увеличение площади и объема гепатоцита ( $P < 0,05$ ), как за счет достоверного нарастания площади и объема его ядра, так и цитоплазмы

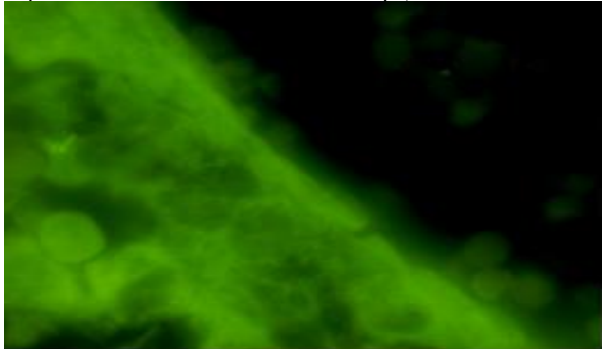


Рис 4. Коллаген I типа: умеренное свечение в капсуле и слабое свечение в стромальном компоненте печени плодов крыс КГ. Непрямой метод Кунса с МКА к коллагену I типа, х1000

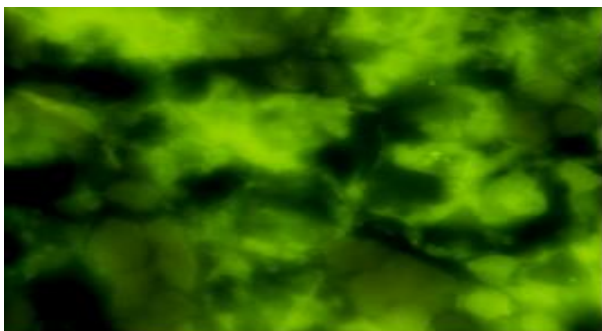


Рис 6. Интенсивное свечение коллагена I типа в стромальном компоненте печени плодов крыс ЭГ. Непрямой метод Кунса с МКА к коллагену I типа, х1000

( $P < 0,05$ ) с достоверным увеличением ЯЦИ ( $P < 0,05$ ). (табл.1). В ЭГ по сравнению с ГС в 1,4 раза уменьшается плотность гепатоцитов, достоверно отличаясь от показателя у плодов с ХВГ ( $P < 0,05$ ). Площадь и объем гепатоцитов и их цитоплазмы достоверно снижаются, площадь и объем ядер гепатоцитов достоверно не отличаются от показателей ЭГ, в то же время достоверно нарастает ЯЦИ ( $P < 0,05$ ).

При проведении корреляционного анализа морфометрических показателей КГ и ЭГ установлено наличие сильной положительной корреляционной связи между показателями площади клетки и площади ядра ( $r = +0,76$ ,  $P < 0,05$ ). Площадь клетки и площадь цитоплазмы, ЯЦИ и площадь ядра характеризовались положительной связью средней силы ( $r = +0,68$ ,  $P > 0,05$ ) и ( $r = +0,42$ ,  $P > 0,05$ ) соответственно), площадь ядра и цитоплазмы положительной связью слабой силы ( $r = +0,05$ ,  $P > 0,05$ ). Между ЯЦИ и площадью клетки, а также ЯЦИ и площадью цитоплазмы статистически достоверная связь не выявлена ( $r = +0,22$ ,  $P > 0,05$ ) и ( $r = +0,83$ ,  $P > 0,05$ ) соответственно). При сравнении показателей ГС и ЭГ обнаружена сильная положительная корреляционная связь между площадью клетки и площадью ядра ( $r = +0,80$ ,  $P < 0,05$ ), площадью клетки и цитоплазмы ( $r = +0,74$ ,  $P < 0,05$ ). Между ЯЦИ и площадью ядра выявлена положительная связь средней силы ( $r = +0,52$ ,  $P > 0,05$ ), площадью ядра и цитоплазмы – слабая положительная связь ( $r = +0,05$ ,  $P > 0,05$ ). Статистически достоверная связь между ЯЦИ и площадью клетки, ЯЦИ и площадью цитоплазмы не определяется.

При иммуногистохимическом исследовании во всех исследуемых группах в капсуле печени визуализировался зрелый коллаген I типа, в строме печеночной дольки – молодой (незрелый) коллаген III типа. Интерстициальные коллагены обоих типов выявлялись периваскулярно и перидуктально в зоне порталных трактов, в меньшей степени в междольковой интерстициальной ткани, при этом во всех группах превалировал коллаген III типа. Кроме того, в ГС и ЭГ в составе базальных мембран сосудов выявлялся коллаген III типа. (рис. 4-9).

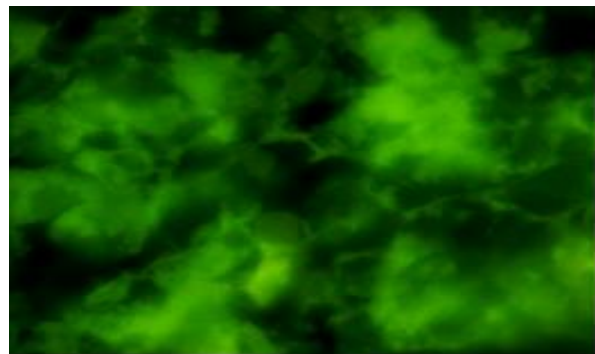


Рис 5. Усиление интенсивности свечения коллагена I типа в стромальном компоненте печени плодов крыс ГС. Непрямой метод Кунса с МКА к коллагену I типа, х1000

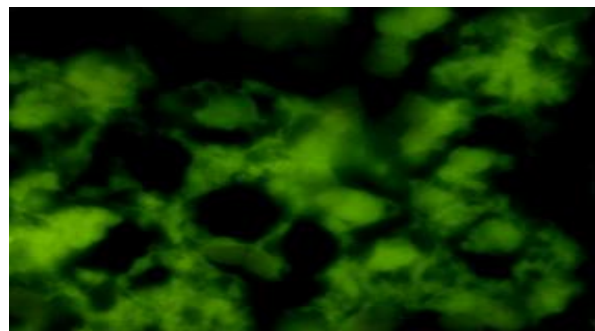


Рис 7. Умеренное свечение коллагена III типа в стромальном компоненте печени плодов крыс КГ. Непрямой метод Кунса с МКА к коллагену III типа, х1000

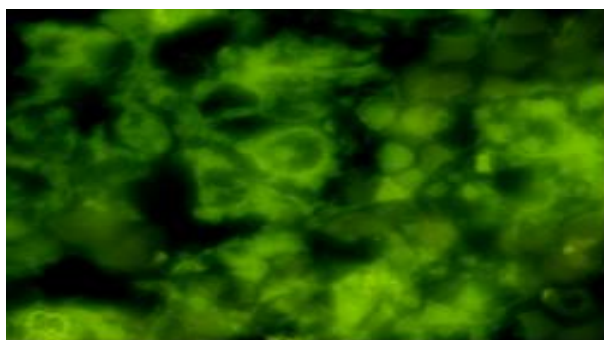


Рис 8. Усиление интенсивности свечения коллагена III типа в стромальном компоненте печени плодов крыс ГС. Непрямой метод Кунса с МКА к коллагену III типа, x1000

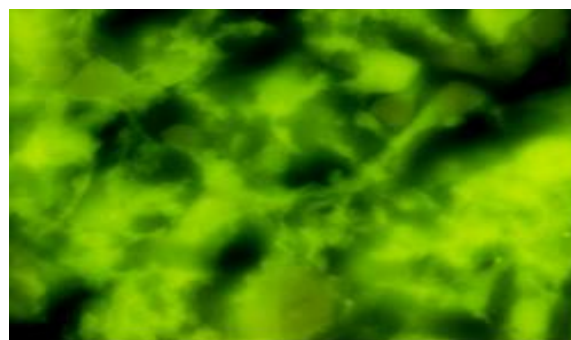


Рис 9. Интенсивное свечение коллагена III типа в стромальном компоненте печени плодов крыс ЭГ. Непрямой метод Кунса с МКА к коллагену III типа, x1000

Данные морфометрического исследования оптической плотности иммунофлуоресценции интерстициальных коллагенов в исследуемых группах представлены в таблице 2.

Таблица 2

Показатели оптической плотности иммунофлуоресценции интерстициальных коллагенов в печени плодов крыс исследуемых групп, усл.ед.св., (M±m)

Тип коллагена	Исследуемые группы			Уровень значимой разницы	
	КГ	ГС	ЭГ	КГ и ЭГ	ГС и ЭГ
I тип	0,24±0,005	0,34±0,005	0,42±0,006	P<0,05	P<0,05
III тип	0,28±0,005	0,37±0,006	0,45±0,006	P<0,05	P<0,05

Уровни значимой разницы: P<0,05 – достоверно; P>0,05 – недостоверно

**Обсуждение результатов.** В группе сравнения и экспериментальной группе в печени плодов микроскопически наблюдались морфологические признаки дисциркуляторных и альтеративных процессов в виде полнокровия центральных вен дольки и прилежащих синусоидов, нарушения балочного строения печеночных долек, развития дистрофических и некробиотических процессов в гепатоцитах с формированием мелкоочаговых некрозов. Отмечались также признаки незрелости печеночной ткани в виде распространенного экстрамедуллярного кроветворения. Обнаруженные изменения не носят специфического характера и отражают, прежде всего, влияние ХВГ как таковой и длительной интоксикации, возникающей в результате пролонгированной инфекции у матери, что также сопровождается хронической гипоксией плода [14,18]. Сочетанное воздействие обоих патогенных факторов привело к тому, что у плодов с ВУИ обнаруженные изменения носили более распространенный и выраженный характер. В отличие от ГС в ЭГ наряду с жировой дистрофией регистрировалась гидропическая дистрофия гепатоцитов, наблюдались очаги пролиферации и скопления купферовских клеток.

Морфометрически в печени плодов ГС и ЭГ отмечалось прогрессивное снижение плотности гепатоцитов, что объясняется как расширением просветов полнокровных синусоидов, так и наличием очагов деструкции гепатоцитов. При ХВГ средние значения площади и объема гепатоцитов нарастали как за счет увеличения площади и объема его ядра, так и цитоплазмы, увеличивалось значение ЯЦИ, что указывает на развитие компенсаторной гипертрофии клеток, усиление их функциональной и пролиферативной активности в ответ на альтеративные изменения в печеночных клетках. При ВУИ в сравнении с ХВГ отмечалось снижение показателей площади и объема гепатоцитов, при этом площадь и объем ядер гепатоцитов практически не изменялись, но отмечалось нарастание показателя ЯЦИ за счет снижения площади и объема цитоплазмы, что отражает снижение их синтетической активности в условиях пролонгированного инфицирования матери [15].

При иммуногистохимическом исследовании распределения коллагенов I и III типов в стромальном компоненте печени плодов крыс ГС и ЭГ отмечалось нарастание содержания молодого интерстициального коллагена III типа, ускорение темпов продукции из него зрелого коллагена I типа, что связано со стимуляцией коллагеногенеза в условиях хронической гипоксии и в дальнейшем онтогенезе может приводить к развитию склеротических изменений [16]. Вместе с тем в ЭГ процесс коллагенизации носил более выраженный характер, что связано с дополнительной стимуляцией его в условиях пролонгированного инфекционного процесса у матери [17].

**Выводы.** Полученные в результате комплексного морфологического исследования данные свидетельствуют о том, что у плодов крыс от матерей с пролонгированной инфекцией, вызванной *Klebsiella pneumoniae*, и у плодов с ХВГ в печени наблюдаются однотипные изменения в виде полнокровия центральных вен и синусоидов, нарушения балочного строения печеночной дольки, дистрофии и некроза гепатоцитов с регенераторным усилением пролиферативной активности печеночных клеток, развитием их компенсаторной гипертрофии и стимуляцией синтеза интерстициальных коллагенов. У плодов от матерей с пролонгированной клебсиеллезной инфекцией по сравнению с плодами с ХВГ степень выраженности дисциркуляторных изменений, альтеративных процессов в паренхиматозном компоненте печени нарастает, что сопровождается снижением функциональной активности гепатоцитов и усилением склеротических изменений в стромальном компоненте органа, что может привести к срыву адаптационных возможностей печени в дальнейшем онтогенезе.

**References:**

1. Global Health Estimates 2015: Deaths by cause, age, sex, by country and by region, 2000–2015. Geneva: World Health Organization; 2016 ([http://www.who.int/healthinfo/global\\_burden\\_disease/estimates/en/index1.html](http://www.who.int/healthinfo/global_burden_disease/estimates/en/index1.html), accessed 22 March 2017). Switzerland.
2. Kemp M.W. Preterm birth, intrauterine infection, and fetal inflammation / M.W. Kemp // *Frontiers in Immunology*. – 2014. – Vol. 5. – P. 1-11. Australia.
3. Eukaryote-Made Thermostable DNA Polymerase Enables Rapid PCR-Based Detection of Mycoplasma, Ureaplasma and Other Bacteria in the Amniotic Fluid of Preterm Labor Cases

/ T. Ueno, H. Niimi, N. Yoneda [et al.] // PLoS One. – 2015. – Vol. 10. – P. e0129032. UNITED STATES.

4. Kuzmin V.N. Sovremennui vzglyad na problemy vnytrytrobnoi infekcii / V.N. Kuzmin, K.N. Arslanian, E.I. Harchenko // Lech. vrach. – 2016. – №3. – S. 44-46. Kazahstan.

5. Nereshennue zadachi statisticheskogo ycheta dannuh o vnytrytrobnykh infekciakh / M.G. Darina, I. G. Tehova, K.N. Movchan [i dr.] // Medicinski almanah. – 2015. – № 5. – S. 71-74. Russian.

6. Gnatko O.P. vnytrytrobni infekcii / O.P. Gnatko, N.G. Skyriatina // Imynologia ta alergologia: nayka i praktuka. – 2015. №1. – S. 74-78. Ukrainian.

7. Borovkova E.I. Vzaimodejstvie vzbuditelej infekcii s organizmom beremnoy kak faktor riska vnutritrobnoy inficirovaniya ploda / E.I. Borovkova // Zdorov'e zhenshchiny. – 2013. – № 2. – S. 95-98. Russian.

8. Pasieshvoli N.M. Osoblivosti kliniko-imunologichnogo stanu vagitnih z materins'ko-plodovoyu infekciyu / N.M. Pasieshvoli // Ekologichna i klinichna imunologiya ta imunoreabilitaciya. 2014. – S. 83-90. Ukrainian.

9. Vnutritrobnoe inficirovanie ploda: sovremenniy vzglyad na problemu / U.R. Hamad'yanov, L.A. Rusakova, A.U. Hamad'yanova [i dr.] // Rossijskij vestnik akushera'ginekologa. – 2013. – № 5. – S. 16-20. Russian.

10. Vnutrishn'outrobni infekcii – prichina patologichnih staniv perinatal'nogo periodu / M.O. SHerbina, L.A. Vigivs'ka, N.V. Kapustnik // Perinatologiya i pediatriya – 2016. – № 2. – S. 65 – 69. Ukrainian.

11. Patent na korisnu model' 88459 Ukraïna, MPK G09B 23/28. Sposib modelyuvannya vnutrishn'outrobnoi gipoksii z asfiksiyu novonarozhdzenogo v pologah /V.D. Markovsk'ij, I.V. Sorokina, G.I. Gubina-Vakulik, O.A. Omel'chenko, O.V. Kihtenko, M.S. Miroshnichenko, O.M. Pliten' (UA). – № u 2013 13681; zayavl. 25.11.2013; opubl. 11.03.2014. Byul. № 5.Ukrainian.

12. Pliten' O.N. Vliyanie hronicheskoy antenatal'noj gipoksii i imeyushchihysya u materi hronicheskikh infekcionnykh zabojevanij razlichnykh organov i sistem na gistologicheskie osobennosti timusa plodov i novorozhdennyh / O.N. Pliten' // Eksperimental'na i klinichna medicina. – 2015. – №2 (67) – S.38-43. Ukrainian.

13. Patent na vinahid Sposib modelyuvannya vnutrishn'outrobnoy infikuvannya ploda ta novonarozhdzenogo yak naslidku pidgostrogogo infekcijno-zapal'nogo procesu materi / V.D. Markovsk'ij, I.V. Sorokina, M.S. Miroshnichenko, O.M. Pliten', M.M. Mishina, A.S. SHapkin, O.V. Kaluzhina (UA). – № a 2014 00681; zayavl. 24.01.2014; opubl. 10.06.2014, Byul. № 11. Ukrainian.

14. Berhan Y. A meta-analysis of selected maternal and fetal factors for perinatal mortality / Y. Berhan, A. Berhan // Ethiop. J. Health Sci. – 2014. – Vol. 24, suppl. – P. 55–68. Ethiopian.

15. Sikorin YA.YA. Patomorfologichni ta morfometrichni osoblivosti pechinki novonarozhdzenih ditej pri vnutrishn'-outrobniy asociovaniy infekciyah / YA.YA. Sikoryan // Galic'kij likars'kij visnik. – 2012. – T. 19. №1. – S. 63-66. Ukrainian.

16. Iran J. Preterm birht intrauterine infection and fetal inflammation. / J. Iran // Public Health. – 2015. – Vol. 44, N 10. – P. 1322-1329. Australian.

17. Lebedeva, E. I. Modifikaciya metoda okrashivaniya soedinitel'noj tkani v pecheni pri ee fibrozah / E. I. Lebedeva // Innovacii v medicine i farmacii – 2014: materialy distanc. nauch.-prakt. konf. studentov i molodyh uchenyh, Minsk, 2014 g. / M-vo zdoravohraneniya Resp. Belarus', Bel. gos. med. un-t; [pod red. A.V. Sikorskogo i dr.]. – Minsk, 2014. – S. 389–394. Russian.

18. Kupffer Cells Protect Liver Sinusoidal Endothelial Cells from fas-Dependent Apoptosis in Sepsis by Down-

Regulating gp 130/ N.A/ Hutchins, Chung Chun-Shiang, J.N. Borgerding et all // Am J Pathol. – 2013. – Vol.182, №3. – P.742-754. American.

УДК 612.359-053.31: 618.2:57.084.1

**ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ПЕЧІНКИ ПЛОДІВ ВІД МАТЕРІВ ІЗ ПІДГОСТРИМ ІНФЕКЦІЙНО-ЗАПАЛЬНИМ ПРОЦЕСОМ У ЧЕРЕВНІЙ ПОРОЖНИНІ, ВИКЛИКАНИМ KLEBSIELLAE PNEUMONIA, І ПЛОДІВ ІЗ ХРОНІЧНОЮ ВНУТРІШНЬОУТРОБНОЮ ГІПОКСІЄЮ (ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)**

Марковський В.Д., Сакал О.О.

*Харківський національний медичний університет, кафедра патологічної анатомії, м. Харків, Україна, ORCID ID: 0000-0002-2237-3639, ORCID ID: 0000-0002-1648-0585, e-mail: Sakal\_anna@ukr.net*

**Резюме.** Метою дослідження було в експерименті на тваринах вивчити особливості морфофункціонального стану печінки плодів від матерів із підгострим інфекційно-запальним процесом у черевній порожнині, викликаним Klebsiella pneumoniae. Матеріалом для морфологічного дослідження послужила печінка плодів шурів, які були розділені на 3 групи: контрольну (КГ), експериментальну (ЕГ) і групу порівняння (ГП). КГ (n = 9) – плоди від вагітних самок шурів із фізіологічно протікаючою вагітністю, ЕГ (n = 10) – плоди від вагітних самок шурів із підгострим інфекційно-запальним процесом у черевній порожнині, модельованим із використанням референс-штамів Klebsiella pneumoniae (NCTC 5055), ГП (n = 7) – плоди з хронічною внутрішньоутробною гіпоксією (ХВГ). Забір, фіксація матеріалу і виготовлення парафінових блоків здійснювалися відповідно до загальноприйнятих методик. Серійні поперечні зрізи фарбували гематоксиліном і еозином. Непрямим методом Кунса в модифікації Brosman M. За допомогою моноклональних антитіл (МКАТ) до колагенів I, III типів фірми Novocastra Laboratories Ltd, UK виявляли інтерстиціальні колагени. Препарати вивчали в люмінесцентному мікроскопі «Axioskop 40» (Carl Zeiss, ФРН). Шляхом відеомікроскопічної морфометрії з використанням програми «Olympus DP-soft version 3.1» Microsoft Excel в гепатоцитах визначали площу і обсяги ядра, цитоплазми і клітини в цілому, визначали ядерно-цитоплазматичний індекс (ЯЦІ), підраховували щільність розташування гепатоцитів в 1мм2. У препаратах, оброблених МКАТ, визначали інтенсивність світіння в умовних одиницях світіння (ум. Од. Св.) Усі дані оброблялися методами математичної статистики з використанням варіаційного і кореляційного аналізу. Для визначення достовірності результатів використовували критерій Манна-Уїтні-Уїлксона, для проведення кореляційного аналізу використовували коефіцієнт кореляції Спірмена. В ГП і ЕГ в печінці плодів мікроскопічно спостерігалися морфологічні ознаки дисциркуляторних і альтеративних процесів у вигляді повнокров'я центральних вен часточки і прилеглих синусоїдів, порушення балкової будови печінкових часточок, розвитку дистрофічних і некробіотичних процесів у гепатоцитах із формуванням дрібновогнищевих некрозів. Відзначалися також ознаки незрілості печінкової тканини

у вигляді поширеного екстрамедулярного кровотворення. У плодів EG виявлені зміни носили більш поширений і виражений характер. Морфометрично в печінці плодів ГП і EG зазначалося прогресивне зниження щільності гепатоцитів. В ГП середні значення площі і обсягу гепатоцитів наростали як за рахунок збільшення площі та об'єму його ядра, так і цитоплазми, збільшувалася значення ЯЦІ. В EG відзначалося зниження показників площі та об'єму гепатоцитів, при цьому площа і об'єм ядер гепатоцитів практично не змінювалися, але зазначалося наростання показника ЯЦІ за рахунок зниження площі і обсягу цитоплазми. При імуногістохімічному дослідженні розподілу колагенів I і III типів в стромальному компоненті печінки плодів шурів ГС і EG зазначалося наростання вмісту молодого інтерстиціального колагену III типу, прискорення темпів продукції з нього зрілого колагену I типу. В EG процес колагенізації носив більш виражений характер. Отримані дані свідчать про те, що у плодів шурів від матерів з пролонгованою інфекцією, викликаною *Klebsiella pneumoniae*, і у плодів із ХВГ в печінці спостерігаються однотипні зміни у вигляді повнокров'я центральних вен і синусоїдів, порушення балкової будови печінкової часточки, дистрофії та некрозу гепатоцитів з регенераторним посиленням проліферативної активності печінкових клітин, розвитком їх компенсаторної гіпертрофії і стимуляції синтезу інтерстиціального колагену. У плодів від матерів з пролонгованою клебсієллезною інфекцією в порівнянні з плодами з ХВГ ступінь вираженості дисциркуляторних змін, альтеративних процесів в паренхіматозному компоненті печінки наростає, що супроводжується зниженням функціональної активності гепатоцитів і посиленням склеротичних змін в стромальному компоненті органу, що може привести до зриву адаптаційних можливостей печінки в подальшому онтогенезі.

**Ключові слова:** морфологія, печінка, плід, внутрішньоутробне інфікування, гіпоксія.

UDC 612.359-053.31:618.2:57.084.1

## COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF THE LIVER MORPHOFUNCTIONAL STATE OF THE FETUSES FROM MOTHERS WITH SUBACUTE INFECTIOUS INFLAMMATION OF THE ABDOMINAL CAVITY CAUSED BY *KLEBSIELLAE PNEUMONIAE* AND THE FETUSES WITH CHRONIC PRENATAL HYPOXIA (EXPERIMENTAL RESEARCH)

V.D. Markovskiy, O.O. Sakal

*Kharkiv National Medical University, Department of Pathological Anatomy, Kharkov, Ukraine, ORCID ID: 0000-0002-2237-3639, ORCID ID: 0000-0002-1648-0585, e-mail: Sakal\_anna@ukr.net*

**Abstract.** The aim of the study is to investigate peculiarities of the liver morphofunctional state of the fetuses from mothers with subacute infectious inflammation of the abdominal cavity caused by *Klebsiella pneumoniae* in the experiment. For morphological studies, we used fetal liver of the rats, which were divided into 3 groups: control (ContG), experimental (ExG) and a comparison group (CompG). ContG (n = 9) – fetuses from pregnant female rats with physiologically occurring pregnancy, ExG (n = 10) – fetuses from pregnant female rats with a subacute infectious inflammatory process in the abdominal cavity, modeled using reference

strains of *Klebsiella pneumoniae* (NCTC 5055), CompG (n = 7) – fetuses with chronic prenatal hypoxia (CPH). The taking, fixation of the material and the production of paraffin blocks were carried out in accordance with generally accepted procedures. Serial cross sections were stained with hematoxylin and eosin. Interstitial collagens were detected using indirect Coons method in Brosman modification with monoclonal antibodies (MAbs) to collagens I, III (Novocastra Laboratories company Ltd, UK). The preparations were studied with fluorescent microscope "Axioskop 40" (Carl Zeiss, Germany). The area and volumes of the nucleus, cytoplasm and whole volume of the hepatocytes, the nuclear-cytoplasmic index (NCI) and the density of the location of the hepatocytes in 1mm<sup>2</sup> were determined with video microscopic morphometry with using of the program "Olympus DP-soft version 3.1", Microsoft Excel. In preparations treated with MAbs was determined the fluorescence intensity in conditional units of luminescence. All data were processed by methods of mathematical statistics using variation and correlation analysis. The Mann-Whitney-Wilcoxon test was used to determine the reliability of the results, the Spearman correlation coefficient was used to perform the correlation analysis.

In the CompG and the ExG morphological signs of discirculatory and alterative processes in the form of central pleural veins and adjacent sinusoids, abnormalities in the lobular structure of the hepatic lobules, development of dystrophic and necrotic processes in hepatocytes with the formation of small-focal necrosis were microscopically observed in the liver of the fetuses. There were also signs of immaturity of the hepatic tissue in the form of widespread extramedullary hematopoiesis. In the fetuses of ExG, the observed changes were more common and expressed. Morphometrically in the liver of CompG and ExG fetus, a progressive decrease in the density of hepatocytes was noted. In CompG, the mean values of the area and volume of hepatocytes were increased due to the increase in the area and volume of its nucleus, as well as of the cytoplasm, and the value of NCI index was increased. In the ExG decline in area and volume of hepatocytes was noted, the area and volume of hepatocyte nuclei were unchanged, the NCI index was increased by reducing the area and volume of cytoplasm. In the immunohistochemical study of the distribution of collagen types I and III in the stromal component of the liver of the fetuses of rats of the CompG and ExG were found increasing of the content of the young interstitial collagen (type III), accelerating of the rate of production of the mature collagen (type I). The collagenization process was more pronounced in the ExG. The obtained data indicate that in rats from mothers with prolonged infection caused by *Klebsiella pneumoniae* and in fetuses with CPH in the liver the same changes in the form of central pleural veins and sinusoids, violations of the lobular structure of the hepatic lobe, dystrophy and necrosis of hepatocytes with regenerative increasing in the proliferative activity of hepatic cells, the development of their compensatory hypertrophy and the stimulation of the synthesis of interstitial collagens are observed. In the fetuses from mothers with prolonged *Klebsiella* infection in comparison with fetuses with CPH, the degree of severity of discirculatory changes, alterative processes in the parenchymal component of the liver increases, which is accompanied by a decrease in the functional activity of hepatocytes and increased sclerotic changes in the stromal component of the organ, which can lead to disruption of the adaptive capacity of the liver further ontogeny.

**Keywords:** morphology, liver, fetus, intrauterine infection, hypoxia.

Стаття надійшла до редакції 02.07.2018 р