

© *Товажнянская В. Д., Сорокина И. В.

УДК: 616.45-091.8-053.1-02; 618.3-06: 616.9

*Товажнянская В. Д., Сорокина И. В.

**ВЛИЯНИЕ ЭШЕРИХИОЗА МАТЕРИ
НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ
КОРЫ НАДПОЧЕЧНИКОВ ПЛОДОВ КРЫС
(ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

Харьковский национальный медицинский университет (г. Харьков)

***Харьковская медицинская академия последипломного образования (г. Харьков)**

viratov@yahoo.com

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

Вступление. Внутриутробная инфекция (ВУИ) – одна из ведущих причин перинатальной заболеваемости и смертности. В настоящее время резко повысился рост числа инфекционных заболеваний матери, что приводит к устойчивой тенденции ухудшения здоровья детей. Риск инфицирования плода колеблется от 0,01 до 75%, что обусловлено разновидностью и типом возбудителя, характером инфекции у матери, сопутствующей патологии, состоянием реактивности ее организма и организма плода [7].

Ведущая роль внутриутробных инфекций определяет актуальность всестороннего изучения этого вопроса. Из бактериальных инфекций при беременности все чаще встречается инфицирование условно-патогенными микроорганизмами. При первом визите беременной к врачу рекомендуется провести посев на флору. Часто при посеве обнаруживают *Escherichia coli*. Как правило, в половые пути беременной женщины кишечные палочки попадают из области ануса [2].

Кишечная палочка (лат. *Escherichia coli*) – вид граммотрицательных палочковидных бактерий, входящих в состав нормальной микрофлоры ЖКТ человека [9]. Она появляется уже у новорожденных и живет в кишечнике всю человеческую жизнь, выполняя многие важные функции. Существует большое число разновидностей кишечной палочки, в том числе более 100 патогенных типов [8]. По оценкам Центра по контролю заболеваемости ежегодно в США *Escherichia coli* серотипа O157:H7 вызывает более 73 000 случаев инфекции, многие из которых заканчиваются смертью [11].

Условно-патогенное инфицирование матери может привести к широкому разнообразию перинатальной патологии: порокам развития, мертворождениям, задержке внутриутробного развития плода, развитию фетоплацентарной недостаточности [4]. Инфицирование плода может быть вызвано как острой инфекцией матери, так и активацией хронического процесса. Однако, несмотря на всю боль-

шую встречаемость, вопрос влияния эшерихиоза беременной на морфологические характеристики органов плода, а в частности, надпочечных желез практически не изучался. В доступной литературе сведения противоречивы и немногочисленны [3].

Цель исследования – в эксперименте выявить влияние материнского эшерихиоза на состояние коры надпочечников плодов крыс линии WAG.

Объект и методы исследования. В качестве экспериментальных животных использованы крысы линии WAG. Эксперимент был проведен в два этапа. На первом этапе экспериментальным путем установлена инфицирующая доза для развития подострого, пролонгированного, инфекционно-воспалительного процесса в брюшной полости крысы. Для моделирования инфекционно-воспалительного процесса в качестве инфекционного агента использовался референс-штамм *Escherichia coli* (ATCC 25922 (F50)). На втором этапе эксперимента, с помощью выведенной нужной инфицирующей дозы, был смоделирован подострый, пролонгированный, инфекционно-воспалительный процесс в брюшной полости крысы-самки, после чего к инфицированной самке подсаживали самцов, самки беременели, а потом от беременных самок получали плодов. Выведение животных из эксперимента проводилось согласно условиям эвтаназии, указанным в методических рекомендациях МОЗ Украины, и этическим принципам проведения экспериментов на животных согласно положениям «Европейской конвенции о защите позвоночных, которых использовали для экспериментальных и иных целей». Эвтаназию лабораторных животных проводили путем передозировки тиопентала натрия с последующей декапитацией.

У всех плодов извлекались надпочечники, исследовались оба надпочечника для усреднения результата. После фиксации в 10% формалине надпочечники заливали в парафин. Для исследования были использованы гистологический метод: окраска срезов гематоксилином и эозином для обзорной микроскопии. Микропрепараты изучались на микроскопе «Olympus BX-41». Морфометрическое исследование осуществлено на компьютерных изображениях: проводилось вычисление относительных объемов основных структурных компонен-

тов, при подсчете плотности клеток каждой зоны, площади ядер, клеток и цитоплазмы в надпочечниках, исследование выполнялось с помощью программы Photoshop CS5. Весь полученный цифровой материал данных обрабатывался методами математической статистики с использованием вариационного и альтернативного анализов с помощью пакета прикладных программ компании Microsoft «Excel – 5.0» [5].

Результаты исследования и их обсуждение

Макроскопически надпочечники исследовались с помощью лупы, в обеих группах железы имели округло-треугольную форму, были покрыты соединительнотканной капсулой. Микроскопически обнаружено, что клетки коркового слоя образуют эпителиальные тяжи, ориентированные перпендикулярно к поверхности надпочечника. Промежутки между тяжами заполнены рыхлой соединительной тканью, по которой проходят капилляры и нервы.

При исследовании группы контроля, клубочковая зона хорошо дифференцировалась от пучковой. В клетках клубочковой зоны обнаруживалось светлое ядро с мелкими глыбками хроматина, и эозинфильная, мало вакуолизированная цитоплазма. Данные особенности соответствуют картине активного синтеза альдостерона [3]. Пучковая зона коры надпочечников у плодов крыс контрольной группы узкая. Спонгиоциты имеют эозинфильную цитоплазму и участки глыбчатого хроматина в ядре. У крысят группы контроля основную толщину коры составила фетальная зона.

У крысят основной группы гистологическая структура надпочечников существенно отличалась от группы контроля. Клубочковая зона коры надпочечников достоверно уменьшена ($P < 0,01$), однако, выглядит более рыхлой, при этом плотность клеток в поле зрения $\times 400$ достоверно меньше ($P < 0,001$), также отмечается достоверное уменьшение площади клетки и площади ядра, что по данным литературы свидетельствует о гипоплазии зоны [4]. Эти данные могут свидетельствовать о том, что часть эндокриноцитов подверглась альтеративным изменениям в процессе приспособления к изменившимся условиям окружающей среды, что может проявиться снижением синтеза альдостерона [1].

Ширина пучковой зоны достоверно увеличена по сравнению с контрольной группой ($P < 0,001$), вследствие более рыхлого расположения клеток. Видимо, спонгиоциты еще не достигли своей функциональной зрелости, так как площадь клеток достоверно уменьшена, вследствие уменьшения объема цитоплазмы (**табл.**). Обращает на себя внимание наличие очагов цитоллиза и резорбции спонгиоцитов с образованием пустот в пучковой зоне (**рис. 1**).

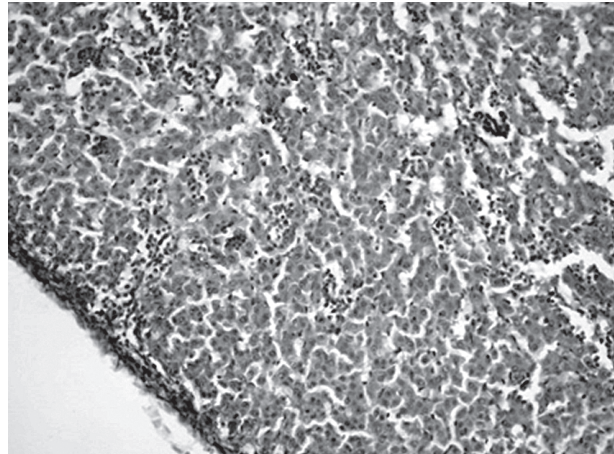


Рис. 1. Очаги цитоллиза и резорбции спонгиоцитов с образованием пустот в пучковой зоне. Окраска гематоксилином-эозином, ув.200.

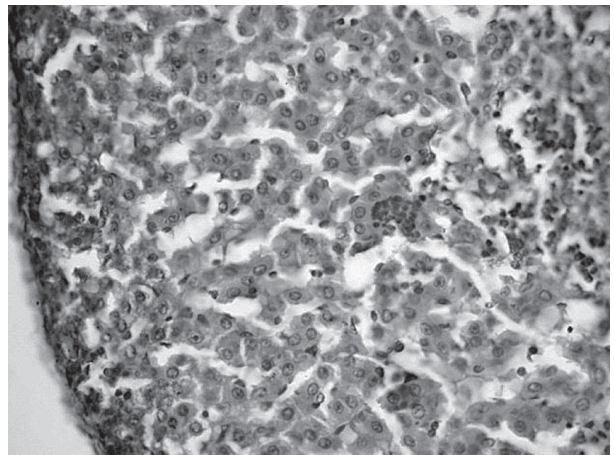


Рис. 2. Уменьшение плотности клеток в фетальной зоне. Окраска гематоксилином-эозином, ув.400.

Таблица.

Морфометрические клеточные параметры коры надпочечников плодов ($M \pm m$)

Ткань и параметры	Контроль	Основная группа	P
Клубочковая зона:			
Ширина в абсолютных числах, мкм	32,68±0,99	24,77±1,03	<0,001
в процентном соотношении, %	16,04±0,24	11,43±0,57	<0,001
Плотность клеток, в поле зрения	113,10±3,76	74,8±2,94	<0,001
Площадь клеток, мкм ²	30,59±0,34	25,31±0,23	<0,05
Площадь ядер, мкм ²	11,52±0,16	10,67±0,07	>0,05
Пучковая зона:			
Ширина в абсолютных числах, мкм	54,61±1,20	80,34±1,76	<0,001
в процентном соотношении, %	26,85±0,42	36,81±0,57	<0,001
Плотность клеток, в поле зрения	218,60±4,10	240,44±7,48	<0,05
Площадь клеток, мкм ²	69,87±0,62	56,22±0,3	<0,05
Площадь ядер, мкм ²	20,87±0,14	19,9±0,09	<0,05
Фетальная зона:			
Ширина в абсолютных числах, мкм	116,23±2,60	113,06±2,64	>0,05
в процентном соотношении, %	57,11±0,52	51,76±0,73	<0,001
Плотность клеток, в поле зрения	131,20±1,24	124,88±2,27	>0,05
Площадь клеток, мкм ²	83,11±1,07	64,71±0,34	<0,01
Площадь ядер, мкм ²	23,37±0,31	21,67±0,2	<0,05

Примечание: столбец P – разница между показателями в основной группе и контроле.

Фетальна кора равна по ширині в абсолютних цифрах (мікрометрах), однак в процентному співвідношенні ширина її достовірно знижена ($P < 0,001$), при цьому знижена густина кліток, достовірно менше середня площа клітки і ядра, що свідчить про зниженні морфофункціональної активності фетальної кори надпочечника порівняно з групою контролю і, можливо, вказує на її вичерпання під впливом антигенної стимуляції [8], або ж пов'язано з порушенням ембріофетогенезу цієї зони [10] (рис. 2).

Виявлена нами гіперплазія пучкової зони може розглядатися як проявлення компенсаторно-приспосадбительного процесу в одві на внутрішньотрубну інфекцію. Тоді як гіперплазія клубочкової і фетальної зон розцінюється як затримка внутрішньотрубного формування кори надпочечників плодів під впливом антигенної стимуляції [6], в нашому спостереженні антигеном вважається материнський ешеріхіоз.

Висновки

1. При інфікуванні матері *Escherichia coli* в надпочечниках плода виявлені морфологічні ознаки, косвенно свідчать про зниженні морфофункціональної активності як постійної, так і фетальної зон кори надпочечників.

2. Структурні зміни в клубочкової і фетальній зонах представлені гіперплазією зон, тоді як в пучковій зоні виражені ознаки вичерпання функціональної активності в одві цитолізу і реторбції спонгіоцитів.

Перспективи дальніших досліджень

В майбутньому необхідно проведення імуногістохімічного дослідження для виявлення кортизол-продуцуючої активності надпочечників, проліферативної активності (Ki-67) і ступеня вираженості апоптозу (P-53) в клітках різних зон надпочечників умерших плодів і новонароджених дітей від матерів з ешеріхіозом.

Література

1. Андреев А.В. Перинатальна гіпоксія як причина патологічних змін надпочечників плодів і новонароджених / А.В. Андреев, Г.И. Губина-Вакулик // Міжнародний медичний журнал. – 2013. – Т. 19, № 3. – С. 65-69.
2. Габидуліна Т.В. Вплив уrogenітальних інфекцій на перебіг вагітності і стан плода і новонародженого / Т.В. Габидуліна, Е.Л. Тимошина, С.Ю. Юрьев, А.Ш. Махмутходжаев // Бюллетень сибірської медицини. – 2002. – № 1. – С. 84-88.
3. Гриноу А. Вроджені, перинатальні і неонатальні інфекції / Під ред. А. Гриноу, Дж. Осборна, Ш. Сазерленд: Пер. с англ. – М.: Медицина, 2000. – 288 с.
4. Давыдова Ю.В. Профілактика перинатальних інфекцій і їх наслідків у вагітних / Ю.В. Давыдова // Репродуктивна ендокринологія. – 2013. – № 3 (11). – С. 17-35.
5. Зайцев В.М. Прикладна медична статистика / В.М. Зайцев, В.Г. Лифляндський, В.И. Маринкин. – СПб.: Фолиант, 2003. – 432 с.
6. Лашене Я. Ендокринні залози новонародженого (функціональна морфологія): монографія / Я. Лашене, Е. Сталиорайтте. – Вільнюс: Минтис, 1969. – 304 с.
7. Нисевич Л.Л. Патологія вагітних і ймовірність внутрішньотрубної інфікування плода: вплив метаболічної терапії / Л.Л. Нисевич, Д.Б. Меджидова, А.А. Адиева // Російський педіатричний журнал. – 2014 – Випуск № 4, Том 17. – С. 23-27.
8. Сидельникова В.М. Привична втрата вагітності / В.М. Сидельникова. – М.: Медицина, 2002. – С. 49-70.
9. Сидорова І.С. Внутрішньотрубна інфекція: ведення вагітності, родов і післяродового періоду: навчальний посібник / І.С. Сидорова, І.О. Макаров, Н.А. Матвієнко. – М.: МЕДпресс-інформ, 2012. – 160 с.
10. Солодкова О.А. Морфофункціональна характеристика надпочечників крис при холодному стресі на фоні прийому екстракта і гідролізату із кукумарії японської: автореферат дис. кандидата медичних наук: 03.00.25 / Солодкова Оксана Алексеевна; Владивосток, 2008 – 22 с.
11. Askienazy-Elbar M. Infection diseases in obstetric and gynecology / M. Askienazy-Elbar // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2006. – Vol. 4. – P. 143-148.

УДК: 616.45-091.8-053.1-02; 618.3-06: 616.9

ВПЛИВ ЕШЕРІХІОЗА МАТЕРІ НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН КОРИ НАДНИРНИКІВ ПЛОДІВ ЩУРІВ (ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ)

Товажнянська В. Д., Сорокіна І. В.

Резюме. Мета дослідження – в експерименті виявити вплив материнського ешеріхіозу на стан кори надниркових залоз плодів щурів лінії WAG.

В якості експериментальних тварин використовували щурів популяції WAG. Експеримент був проведений в два етапи. На першому етапі експериментальним шляхом встановлено інфікуючу дозу для розвитку інфекційно-запального процесу в черевній порожнині щура. Для моделювання інфекційно-запального процесу використовувався референс-штам *Escherichia coli* (ATCC 25922 (F50)). На другому етапі експерименту був змодельований підгострий, пролонгований, інфекційно-запальний процес в черевній порожнині щура-самки, після чого до інфікованої самки підсаджували самців, самки вагітніли, а потім від вагітних самок отримували плодів. Наднирники плодів щурів досліджували морфологічно, використовуючи гістологічні та морфометричні методи.

Експериментально на щурах лінії WAG встановлено, що при інфікуванні матері *Escherichia coli* в надниркових залозах плода виявляються морфологічні ознаки, що побічно свідчать про зниження морфофункці-

нальної активності як постійної, так і фетальної зон кори надниркових залоз, що може розглядатися як прояв компенсаторно-приспосувального процесу у відповідь на внутрішньоутробну інфекцію.

Ключові слова: наднирник, ешеріхіоз, плід, щур.

УДК: 616.45-091.8-053.1-02; 618.3-06: 616.9

ВЛИЯНИЕ ЭШЕРИХИОЗА МАТЕРИ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ КОРЫ НАДПОЧЕЧНИКОВ ПЛОДОВ КРЫС (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Товажнянская В. Д., Сорокина И. В.

Резюме. Цель исследования – в эксперименте выявить влияние материнского эшерихиоза на состояние коры надпочечников плодов крыс линии WAG.

В качестве экспериментальных животных использовали крыс популяции WAG. Эксперимент был проведен в два этапа. На первом этапе экспериментальным путем установлена инфицирующая доза для развития инфекционно-воспалительного процесса в брюшной полости крысы. Для моделирования инфекционно-воспалительного процесса использовался референс-штамм *Escherichia coli* (ATCC 25922 (F50)). На втором этапе эксперимента был смоделирован подострый, пролонгированный, инфекционно-воспалительный процесс в брюшной полости крысы-самки, после чего к инфицированной самке подсаживали самцов, самки беременели, а потом от беременных самок получали плодов. Надпочечники плодов крыс исследовали морфологически, используя гистологические и морфометрические методы.

Экспериментально на крысах линии WAG установлено, что при инфицировании матери *Escherichia coli* в надпочечниках плода выявляются морфологические признаки, косвенно свидетельствующие о снижении морфофункциональной активности как постоянной, так и фетальной зон коры надпочечников, что может рассматриваться как проявление компенсаторно-приспособительного процесса в ответ на внутриутробную инфекцию.

Ключевые слова: надпочечник, ишерихиоз, плод, крыса.

UDC: 616.45-091.8-053.1-02; 618.3-06: 616.9

IMPACT OF MOTHERS' ESCHERICHIOSIS ON MORPHOFUNCTIONAL STATE OF FETUS ADRENAL GLAND

Tovazhnyanska V. D., Sorokina I. V.

Abstract. Leading role of intrauterine infections relevance a comprehensive study. During pregnancy in structure of bacterial infections really increased role of opportunistic pathogens. During first visit of pregnant woman to the doctor is recommended to sow flora of vagina. Often its detected *Escherichia coli*. As a rule, to genital tract of pregnant women *E. coli* gets from anus.

Opportunistic infection of mother may lead to wide variety of perinatal pathology: malformations, stillbirth, intrauterine growth retardation, development of placental insufficiency. Infection of the fetus can be caused by acute maternal infection and also by chronic process. However, despite the greater incidence of question of mother escherichiosis influence on morphological characteristics of fetus, and in particular, the adrenal glands, has not been practically studied. Available literature data are conflicting and limited.

Objective: to identify an effect of mothers' escherichiosis on rats fetal adrenal gland using experimental methods.

Materials and Methods: as experimental animals we used WAG rats. The experiment was conducted into two stages. In the first stage we experimentally established infectious dose for the development of infectious-inflammatory process in the abdominal cavity of the rat. We used the reference strain of *Escherichia coli* (ATCC 25922 (F50)) for modeling inflammatory process. The second stage of the experiment, using the infective dose was modeled subacute, prolonged inflammation of the abdominal cavity of female rats. Then male were tucked to infected female, females got pregnant, and pregnant females then obtained from fetuses. The adrenal glands of rats fetuses were examined morphologically using histological and morphometric methods.

Results and Discussion. Grossly adrenals were studied with a magnifying glass, in both groups adrenals had from rounded to triangular shape, were covered with a connective tissue capsule. Microscopically was found cortical epithelial cells, oriented perpendicular to the surface of the adrenal gland. The gaps between the strands are filled with loose connective tissue, among are seen capillaries and nerves.

In the study of the control group, zona glomerulosa is well differentiated from zona fasciculata. In the cells of the zona glomerulosa revealed a bright nucleus with small clumps of chromatin, and eosinophilic little vacuolated cytoplasm. These features correspond to picture of active synthesis of aldosterone. Zona fasciculata in the control group of rats is narrow. Its cells have eosinophilic cytoplasm and portions of chromatin in the nucleus. In rats, the control group was presented by the thick fetal zone.

In rats, the main group by its histological structure was significantly different from the control group. Zona glomerulosa of the adrenal cortex was significantly reduced ($P < 0.01$), however, was more loose, and the density of cells in the visual field X400 significantly lower ($P < 0.001$), also noted a significant decrease in the cell area and the core area, which according to the literature evidence of hypoplasia of this zone. These data may indicate that part of undergone alterative changes in the process of adaptation to changing environmental conditions that can manifest in decreasing of aldosterone synthesis.

The width of the zona fasciculata increased significantly compared with the control group ($P < 0.001$), due to more loose cell arrangement. Apparently, cells have not yet reached their functional maturation as cell area was significantly reduced due to the reduction of the volume of the cytoplasm. Noteworthy is the presence of foci of cytolysis and resorption of cells with the formation of voids in zona fasciculata.

Fetal cortex had equal width in absolute terms (micrometers), but its width in percentage significantly reduced ($P < 0.001$), with reduced cell density significantly lower cell and nucleus area, which indicates the reduction of morphological and functional activity of the adrenal fetal cortex compared with control, and may indicate its depletion under the influence of antigenic stimulation, or associated with impaired embryofetogenesis of this zone.

We have identified, that hyperplasia of zona fasciculata may be regarded as a manifestation of compensatory-adaptive process in response to intrauterine infection. While hypoplasia of zona glomerulosa and fetal zone regarded as intrauterine formation of the fetus under the influence of antigenic stimulation, in our observation the antigen was maternal ehsherihiosis.

Experimentally on line WAG rats we found that when mother was infected with *Escherichia coli* in the adrenal glands of the fetus revealed morphological features that hint at the reduction of morphofunctional activity of both continuous and fetal zone of the adrenal cortex, which may be regarded as a manifestation of compensatory-adaptive process in response to intrauterine infection.

Research Perspective. In the future necessary to carry out immunohistochemical studies to detect cortisol-producing adrenal activity and proliferative activity (Ki-67) and the degree of expression of apoptosis (P-53) in the cells of the different zones of the adrenal glands of dead fetuses and newborns of mothers with ehsherihiosis.

Keywords: adrenal gland, escherichiosis, fetus, rat.

Рецензент – проф. Старченко І. І.
Стаття надійшла 12.03.2016 року