

УДК – 616.36 – 008 811.5:616.6

СТРУКТУРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ОРГАНОВ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ И МОЧЕПОЛОВОЙ СИСТЕМ 15-СУТОЧНОГО ПОТОМСТВА, РОДИВШЕГОСЯ В УСЛОВИЯХ ХОЛЕСТАЗА

Я.Р. Мацюк, Л.С. Кизюкевич, М.Н. Закурдаева,
Е.Ч. Михальчук, Л.А. Можейко, С.В. Емельянчик,
А.А. Карчевский, Е.А. Шелестная

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Эксперимент проведен на 17 крысятах 15 – суточного возраста, 10 из которых родились в условиях обтурационного холестаза, вызванного у самок на 12 сутки беременности. В результате применения в комплексе антропометрического, гистологического и морфометрического методов исследования установлено, что экспериментально вызванный холестаз вызывал не только снижение прироста массы беременных самок и родившегося от них потомства, но и задержку его физического развития и дифференцировку клеточных элементов паренхимы органов пищеварительной и мочеполовой систем. Выраженность данных изменений зависит как от типа органов, так и их функциональной активности в изучаемый возрастной период.

Ключевые слова: беременность, холестаз, потомство, желудок, двенадцатиперстная кишка, поджелудочная железа, почки, яичники.

The experiments were carried out on 17 rat pups (age 15 days) 10 from them were born under conditions of obturational cholestasis induced in their mothers on the 12th day of pregnancy. Using anthropometric, histologic and morphometric methods, we showed that the experimentally induced cholestasis caused both lower weight gain in pregnant females and their litter and retardation of the physical development and of cellular differentiation in parenchyma of gastrointestinal and urogenital systems in rat pups. The degree of such changes depended both on the type of organ and on its functional activity during this age period.

Key words: pregnancy, cholestasis, litter, stomach, duodenum, pancreas, kidneys, ovaries.

Аналитический обзор

Исходя из данных литературы установлено, что нарушение оттока желчи из внутрипеченочных желчных ходов сопровождается резким увеличением в сыворотке крови концентрации желчных кислот, холестерина, билирубина, активности щелочной фосфатазы и пр. [11, 13]. Аналогичные изменения наблюдаются и при экстрапеченочном обтурационном холестазе [7, 10]. Доказано, что экспериментально вызванный холестаз у взрослых животных приводит к значительным изменениям во внутренних органах [3, 6, 9]. Какие же изменения происходят в органах потомства, родившегося от матерей больных холециститом, желчекаменной болезнью, сопровождающихся холестазом, изучено недостаточно [1, 2, 4]. Является твердо установленным фактом, что для матерей холестаз серьезной угрозы не представляет, но оказывает резко отрицательное воздействие на плод [12, 14, 15]. Неуклонный рост заболеваний печени, особенно желчекаменной болезнью, делает эту проблему социально значимой и важной не только в теоретическом, но и практическом отношении [5, 8]. Исходя из вышеизложенного, нами была поставлена цель – изучить структурные особенности ор-

ганов пищеварительной и мочеполовой систем у 15-суточных крысят, родившихся от самок, которым на 12 сутки беременности, т. е. в период обособления зачатков органов у эмбрионов, моделировали обтурационный холестаз.

Материал и методы

Эксперимент проведен на 17 крысятах 15-суточного возраста, 10 из них родились от 10 беспородных белых крыс-самок, которым на 12 сутки беременности вызывали экспериментальный обтурационный холестаз путем наложения лигатуры на верхнюю часть общего желчного протока. 7 других крысят, родившихся от самок, которым в этот срок беременности проделывали все те же хирургические манипуляции, но без лигирования общего желчного протока, служили контролем. Всего в опыте использовано 26 беременных самок. Исходная масса самок составила 180-200 г. За опытными самками и родившимися от них крысятами велось тщательное наблюдение: самок взвешивали на 1, 5, 10, 15, 20 сутки беременности, подсчитывали число крысят в помете, мест имплантации (после умерщвления), оценивали внешний вид крысят, определяли прирост массы на 1, 5, 10, 15 сутки после рождения и их физическое развитие.

На 15 сутки после рождения опытных и контрольных крысят подвергали эвтаназии парами эфира. Быстро извлекали желудок, двенадцaperстную кишку, поджелудочную железу, почки, яичники и после предварительного взвешивания иссекали кусочки для гистологического исследования. Последние после фиксации в жидкости Карнуа заключали в парафин. Изготовленные парафиновые срезы толщиной 5 мкм по принципу «контроль-опыт» монтировались на предметные стекла и окрашивались гематоксилином и эозином. Гистологические препараты после изучения подвергались тщательной морфометрической обработке с использованием системы компьютерного анализа изображений «BIOSCAN». Полученный цифровой материал статистически обрабатывался на персональном компьютере с применением пакета программ «Statistica 6.0» для «Windows».

Результаты и их обсуждение

Проведенные предварительные исследования показали, что из 5 самок, которым холестаза моделировали на 10 сутки беременности, родила лишь одна трех крысят, причем один из них был мертворожденный, а другие отличались сниженной жизнеспособностью (погибли на 2-3 сутки). В матке этих самок, как показало вскрытие, насчитывали от 8 до 11 имплантационных мест. Аналогичная картина наблюдалась у самок с экспериментальным холестазом, вызванным на 11 сутки беременности. У данных животных родился лишь один нежизнеспособный крысенок, а в матке самок насчитывали от 7 до 10 мест имплантации.

Самки, обтурационный холестаза у которых вызывали на 12 сутки беременности, родили все. Их приплод на одну самку составил $7,43 \pm 2,66$ крысенок при $7,50 \pm 1,21$ в контроле.

Опытные самки на 15 и 20 сутки беременности по сравнению с контрольными отставали в приросте массы тела ($p < 0,05$). Незначительно отставали по аналогичному показателю и родившиеся от них крысята. У последних были ниже и показатели физического развития (табл. 1). Однако изменения абсолютной массы органов у опытных крысят были незначительными и неоднозначными (табл. 2).

Неоднозначно изменялись структурные параметры органов и их количествен-

Таблица 1. Показатели физического развития крысят опытной и контрольной групп.

Показатели и время	Группы	
	Контроль	Опыт
Отлипание ушных раковин (3 сутки)	100%	$61,71 \pm 9,81\%$
Появление шерстяного покрова (6 сутки)	100%	$81,83 \pm 10,91\%$
Прорезывание резцов (10 сутки)	$95,84 \pm 4,17\%$	$86,55 \pm 11,80\%$
Открытие глаз (15 сутки)	$66,67 \pm 8,12\%$	$65,83 \pm 8,86\%$

Таблица 2. Абсолютная масса тел и органов 15 суточных крысят.

Показатели	Контроль	Опыт
Масса тела (гр)	$16,90 \pm 0,81$	$17,39 \pm 2,2$
Поджелудочная железа (мг)	$19,75 \pm 2,71$	$23,8 \pm 2,33$
Печень (мг)	$535,67 \pm 8,96$	$489,8 \pm 1,48^*$
Почки (мг)	$90,5 \pm 4,38$	$84,3 \pm 3,77$
Яичники (мг)	$8,13 \pm 1,31$	$7,68 \pm 0,93$
Семенники (мг)	$32,25 \pm 2,83$	$40,3 \pm 1,01^*$
Надпочечники (мг)	$4,79 \pm 0,88$	$5,05 \pm 0,75$
Селезенка (мг)	$36,92 \pm 2,77$	$54,8 \pm 3,66^*$

Примечание: * - показатели достоверны. $P < 0,05$.

ные показатели. В желудке опытных крысят уменьшена толщина слизистой оболочки ($217,4 \pm 1,6$ мкм при $237,6 \pm 2,0$ в контроле, $p < 0,001$) и длина собственных желез ($139,6 \pm 1,8$ мкм при $160,2 \pm 3,1$ в контроле $p < 0,01$). Снижена и численная плотность расположения в поле зрения желудочных ямочек и собственных желез соответственно на 18,7 и 13,3 % ($p < 0,01$). Уменьшено не только количество эпителиоцитов в желудочных ямочках, число экзокриноцитов в собственных железах, но и изменяется их качественный состав. В собственных железах опытных животных число главных и париетальных экзокриноцитов, мукоцитов уменьшается, а число

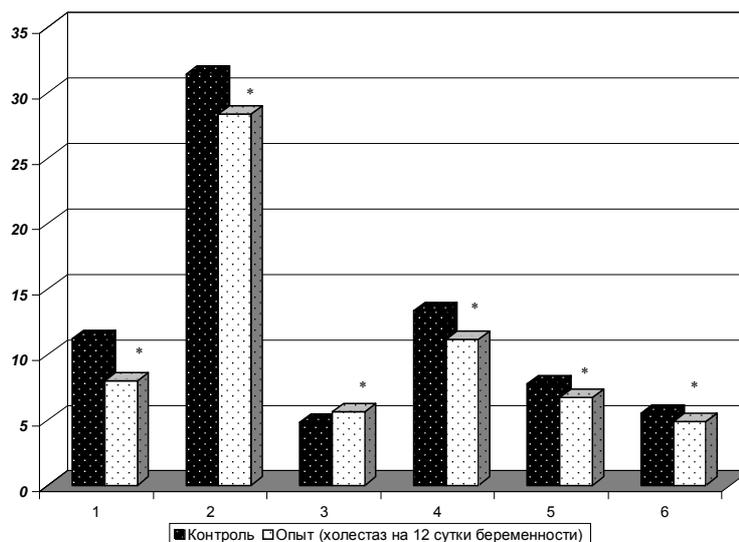


Рис. 1. Количественные и качественные показатели желудочных ямочек и собственных желез желудка. 1 – количество эпителиоцитов в ямочке; 2 – общее число экзокриноцитов в собственной железе, из них: 3 – шеечных; 4 – париетальных; 5 – главных экзокриноцитов; 6 – мукоцитов

Примечание: * - показатели достоверны. $P < 0,05$.

шеечных экзокриноцитов, наоборот, возрастает (рис. 1). Изменены структурные и тинкториальные свойства экзокриноцитов. Главные экзокриноциты отличались большими ядрами и располагались в железе в виде клеточного конгломерата. Базофильные свойства цитоплазмы незначительно снижены. Parietalные клетки отличались полиморфизмом, сниженными оксифильными свойствами, иногда микровакуолизированной цитоплазмой.

В двенадцатиперстной кишке у опытных крысят наблюдается тенденция к уменьшению толщины слизистой, высоты ее ворсинок и глубины крипт. Высота эпителиоцитов ворсинок и их щеточной каемки, а также высота эпителиоцитов крипт статистически достоверно снижена (рис. 2). У большинства опытных животных отмечается микровакуолизация каемчатых эпителиоцитов, отечность и лимфоцитарная инфильтрация в верхнем и среднем отделе ворсинок их соединительнотканной стромы.

Эпителиоциты крипт весьма мелкие, располагались в виде плотного клеточного пласта и отличались более высокими базофильными свойствами, нежели таковые у контрольных животных.

Концевые отделы дуоденальных желез у опыт-

ных крысят не полностью сформированы и представлены в виде неупорядоченных клеточных скоплений glanduloцитов. Секреторные гранулы в апикальном отделе экзокриноцитов у большинства животных не обнаруживаются. Прослойки соединительной ткани между концевыми отделами не развиты.

Несмотря на проявленную у опытных животных тенденцию к увеличению массы поджелудочной железы, ее структура несколько отличается от таковой у контрольных животных – более развиты прослойки соединительной ткани и менее плотное расположение секреторных отделов. Однако диаметр ацинусов, высота их панкреатитов существенно не уступает таковым у контрольных животных. Переинсулярные ацинусы мало отличаются от телеинсулярных у обеих групп животных. Однако в периферическом отделе органа встречаются небольшие дольки, состоящие из ацинусов меньших размеров. В таких ацинусах трудно различить функциональные зоны, их ацинарные клетки более базофильны. У большинства опытных животных гомогенная и зимогенная зоны хорошо различимы. При этом гомогенная зона несколько уже, чем у контрольных животных, иногда микровакуолизирована. Зимогенная зона больше гомогенной, светлая и в некоторых случаях приобретает ячеистую структуру (табл. 3).

Структура панкреатических островков опытных крысят, в основном, сходна с таковой у контрольных. Но у крысят этой возрастной группы чаще, чем у взрослой, встречались мелкие островки, образованные 2-3 эндокриноцитами.

Достоверных изменений массы почек у опытных крысят не наблюдалось. Однако проведенные гистологические и морфометрические исследования показали наличие в ней структурных изменений. Последние наиболее отчетливы в проксимальном отделе нефронов. Диаметр последних, высота выстилающих их эпителиоцитов и объем их ядер увеличены. Однако цитоплазма эпителиоцитов, выстилающих проксимальные отделы нефронов, зачастую была микровакуолизированной. Оксифильные свойства ее цитоплазмы снижены. Щеточная каемка выявлялась неотчетливо. Ширина просвета канальцев практически не менялась. Структурные и морфометрические параметры канальцев дистального отдела нефронов у опытных крысят существенно не отличалась от таковых у контрольных (табл. 4).

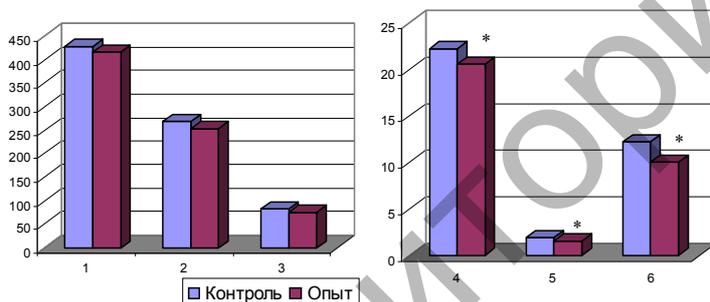


Рис. 2. Количественные показатели структурных компонентов слизистой двенадцатиперстной кишки. 1 – толщина слизистой; 2 – высота ворсинок; 3 – глубина крипт; 4 – высота эпителиоцитов ворсинок; 5 – их щеточной каемки; 6 – высота эпителиоцитов крипт (в мкм).

Примечание: * - показатели достоверны. $P < 0,05$.

Таблица 3. Структура ацинуса поджелудочной железы по данным морфометрии.

Группы	Размер ацинусов (мкм)	Высота ацинарных клеток (мкм)	Ширина гомогенной зоны (мкм)	Ширина зимогенной зоны (мкм)
Контроль	22,1±0,4	10,0±0,2	3,8±0,1	6,2±0,1
Опыт	21,45±0,5	9,8±0,3	3,4±0,1	6,4±0,2
		$p > 0,05$	$p < 0,05$	$p > 0,05$

Таблица 4. Морфометрические показатели канальцевого отдела нефронов почек 15-суточных крысят. $M \pm m$.

Группы	Проксимальный каналец			Дистальный каналец		
	Диаметр (мкм)	Высота эпителиоцитов (мкм)	Объем их ядер (мкм ³)	Диаметр (мкм)	Высота эпителиоцитов (мкм)	Объем их ядер (мкм ³)
Контроль	19,63±0,13	6,7±0,35	53,99±0,02	13,72±0,02	5,89±0,23	40,22±0,13
Опыт	21,46±1,3	8,29±0,13*	61,62±0,18*	13,16±0,16	5,56±0,02	38,02±0,04

Примечание: * - показатели достоверны. $P < 0,05$.

Таблица 5. Структура яичников 15-суточных крысят по данным фотометрии

Показатели	Контроль	Опыт
Общее число фолликулов; из них:	23,7±3,46	21,5±2,09
Примордиальных	11,21±2,88	12,13±0,55
Растущих	6,37±0,54	5,25±0,98
Диаметр их ооцита (мкм)	31,29±1,34	28,0±2,72
Вторичных	6,21±0,24	4,13±0,59*
Диаметр их ооцита (мкм)	43,13±1,58	42,77±1,72
Диаметр ядер фолликулярных клеток	6,28±0,4	5,73±0,63
Число атретических фолликулов (в %)	8,1	9,4

Примечание: * - показатели достоверны. $P < 0,05$.

Масса яичников у опытных крысят проявляла тенденцию к уменьшению. Их структура существенно не отличалась от таковой в контроле. Однако морфометрически установлено уменьшение в корковом веществе яичников опытных животных общего числа фолликулов, преимущественно за счет растущих и вторичных при увеличении количества примордиальных (табл. 5).

Притом размеры растущих и вторичных фолликулов, диаметр их ооцитов уменьшены. В растущих фолликулах задерживалось образование вокруг ооцитов блестящих оболочек. Иногда встречались фолликулы, содержащие несколько ооцитов. Во внутреннем слое теки реже встречались кровеносные капилляры. Часто во вторичных и даже растущих фолликулах ооциты отличались микровакуолизированной карио- и цитоплазмой, неравномерностью распределения в ней гранул вителлина. Ядра фолликулярных клеток таких фолликулов выделялись конденсированным хроматином, а цитоплазма, как правило, подвергалась явлению микровакуолизации. Оксифильные ее свойства резко снижены. Вероятно, некоторая часть этих фолликулов вступила в фазу атрезии. Количество атретических фолликулов было увеличенным.

Таким образом, результаты проведенных исследований показали, что моделируемый на 12 сутки беременности экспериментальный холестаз вызывает у родившегося потомства задержку физического развития и дифференцировку паренхиматозных элементов органов пищеварительной и мочеполовой систем. Полученные данные могут свидетельствовать о том, что содержащиеся в организме беременных самок с желчной гипертензией повышенные концентрации компонентов желчи (билирубин, желчные кислоты и др.) вызывают нарушение тканевого гомеостаза в организме потомства, что приводит к развитию в его органах определенных патогенетических изменений.

Литература

1. Грицюк Р. И. Особенности развития детей при хронических

заболеваниях печени у матери // Педиатрия. – 1970. – с. 59-61.

2. Дахно А. Н. Определение функционального состояния желчевыводящей системы у новорожденных детей первых дней жизни // Физиол. и биохимич. аспекты патол. процессов: Сб. науч. тр. Витебск. мед. ин-та. – Смоленск. 1990. – с. 44-46.

3. Кизиюкевич Л. С., Туревский А. А., Шелестная Е. А. Показатели метаболизма почек при экспериментальном холестазе и последующей хирургической декомпрессии желчных путей // Морфология. – 2000. – 117. – 3. – с. 56-57.

4. Кизиюкевич Л. С., Мацюк Я. Р. Экстрапеченочный обтурационный холестаз матери и развитие потомства // Педиатрия – 2002 – 3. – с. 75-78.

5. Козырев М. А. Заболевания печени и желчных путей. Минск. – 2002. – 249 с.

6. Мацюк Я. Р., Туревский А. А., Кизиюкевич Л. С., Марголь С. К. Морфологические изменения фолликулов щитовидной железы в ранние сроки холестаза // Весці АН Беларусі. – 1995. – 2. – с. 96-100.

7. Петухов В. А., Кузнецов М. Р., Лисин С. В., Кантемирова З. Р. Желчекаменная болезнь и беременность: причинно-следственные взаимосвязи // Анналы хирургии. – 1998. – 2. – с. 14-20.

8. Преображенский В. Н., Василенко В. В., Таяновский В. Ю. Новые подходы в диагностике и лечении холестаза в профессиональных группах молодого возраста // Клиническая медицина – 1987. – 75. – с. 22-23.

9. Туревский А. А., Можейко Л. А., Кизиюкевич Л. С., Емельянчик С. В. и др. Структурно-функциональные сдвиги при экспериментальной ахолии // Актуал. вопросы морфологии: Тез. докл. III съезда анат., гистол., эмбриол. и топографоанатомов УССР. Черновцы. – 1990. – с. 321.

10. Шехтман М. М., Бархатова Т. П. Заболевания внутренних органов и беременность. – М.: Медицина. – 1982. – 272 с.

11. Шехтман М. М. Экстрагенитальная патология и беременность. – Л.: Медицина. – 1987 – 296 с.

12. Britton L. R., Britton H. I. Cholestasis of pregnancy and intranterine intestinal obstruction // L. Maternal. Fetal Ved. – 1992 – 1. – 6. – P. 286-288.

13. Nokkila K., Riikonen S., Linolfors M., Miettinen T. Serum squalene and noncholesterol sterols before and delivery in normal and cholestatic pregnancy // L. Lipid Res. – 1996. – 37. – 12. – P. 2687-2695.

14. Plaza F. L., Diaz R. L., Pardo O., Peres C. Cholestasis intrahepatica del embarazo. Una enfermedad benigna // Rev. Ecp. Enferm. Digest. – 1996. – 88. – 11. – p. 809-811.

15. Shiqizo Tan., Weiye Z., Su X., Guargian L. Huaki vike duxue xue bao // S. West. China. Unir. Med. Sci. – 1999. – 30. – 2. – p. 210-213.

Resume

THE STRUCTURAL PECULIARITIES OF GASTROINTESTINAL AND UROGENITAL ORGANS IN 15-DAY-OLD RAT PUPS BORN UNDER CHOLESTATIC CONDITIONS

Ya.R. Matsiuk, L.S. Kiziukevich, M.N. Zakurdaeva,
E.Ch. Mikhailchuk, L.A. Mozheyko,
S.V. Yemelyanchik, A.A. Karchewsky,
E.A. Shelesnaya

Grodno State Medical University

The obturational cholestasis experimentally induced in rats on the 12th day of pregnancy caused lower weight gain, retardation of the physical development and cellular differentiation in parenchyma of gastrointestinal and urogenital systems in rat pups. The degree of such changes depended both on the type of organ and on its functional activity during this age period.