ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«НОВОСИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Мозолева Софья Павловна

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ПЕЧЕНИ НОВОРОЖДЕННЫХ МЫШЕЙ РАЗНЫХ ЛИНИЙ ПРИ ВНУТРИУТРОБНЫХ ГИПОКСИИ И КАНДИДОЗНОМ ИНФИЦИРОВАНИИ

14.03.02 – патологическая анатомия

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор
Надеев Александр Петрович

Новосибирск – 2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ. 5
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ. 14
1.1 Патология перинатального периода. 14
1.1.1 Влияние гипоксических состояний на развитие плода. 14
1.1.2 Влияние внутриутробных инфекций на развитие плода и новорожденного. 19
1.2 Структурная организация печени плода и новорожденного. Макрофаги печени. 23
1.2.1 Ультраструктура клетки Купфера. 25
1.2.2 Механизмы регуляторных воздействий клеток Купфера на гепатоциты. 27
1.3 Межлинейные различия морфофункциональных параметров органов и систем у мышей линий СВА и С57В1/6. 28
1.4 Матриксная металлопротеиназа-9 и тканевой ингибитор металлопротеиназ-1, их роль в физиологических и патологических процессах. 32
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ. 37
2.1 Экспериментальные животные. 37
2.2. Дизайн экспериментальных исследований. 37
2.2.1 Моделирование хронической гипобарической гипоксии. 38
2.2.2 Моделирование внутриутробного кандидозного инфицирования. 39
2.2.3 Структура экспериментальных групп. 40
2.3 Методы оценки и оборудование. 41
2.3.1 Световая микроскопия ткани печени. 41
2.3.2 Электронная микроскопия клетки Купфера. 44
2.3.3 Морфометрическое исследование. 45
2.3.4 Методы статистической обработки результатов. 48
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ. 49

3.1 Ультраструктурная организация клетки Купфера и характер экспрессии MMP-9 и TIMP-1 непаренхиматозными клетками печени у новорожденных мышей линий СВА и С57Bl/6 в условиях нормы. 49
3.1.1 Ультраструктура клетки Купфера у новорожденных мышей линий СВА и С57В1/6 в условиях нормы. 49
3.1.2 Экспрессия MMP-9 и TIMP-1 непаренхиматозными клетками печени у новорожденных мышей линий СВА и С57В1/6 в условиях нормы. 55
3.2 Ультраструктурная организация клетки Купфера и характер экспрессии MMP-9 и TIMP-1 непаренхиматозными клетками печени у новорожденных мышей линий СВА и С57Bl/6, подвергнутых хронической внутриутробной гипоксии. 58
3.2.1 Ультраструктура клетки Купфера у новорожденных мышей линий СВА и С57Bl/6, подвергнутых хронической внутриутробной гипоксии. . . . 59
3.2.2 Экспрессия MMP-9 и TIMP-1 непаренхиматозными клетками печени у новорожденных мышей линий СВА и С57Bl/6, подвергнутых хронической внутриутробной гипоксии. 69
3.3 Ультраструктурная организация клетки Купфера и характер экспрессии MMP-9 и TIMP-1 непаренхиматозными клетками печени у новорожденных мышей линий СВА и С57Bl/6, внутриутробно инфицированных С. *albicans*. 80
3.3.1 Ультраструктура клетки Купфера у новорожденных мышей линий СВА и С57Bl/6, внутриутробно инфицированных С. *albicans*. 81
3.3.2 Экспрессия MMP-9 и TIMP-1 непаренхиматозными клетками печени у новорожденных мышей линий СВА и С57Bl/6, внутриутробно инфицированных С. *albicans*. 94
ЗАКЛЮЧЕНИЕ. 100
ВЫВОДЫ. 103
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ. 105
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ. 106
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ. 107

СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА. 139
ПРИЛОЖЕНИЕ А (обязательное) Ультраструктурная организация клетки Купфера у новорожденных мышей линий СВА и С57Bl/6 в условиях нормы. 146
ПРИЛОЖЕНИЕ Б (обязательное) Ультраструктурная организация клетки Купфера и характер экспрессии MMP-9 и TIMP-1 непаренхиматозными клетками печени у новорожденных мышей линий СВА и С57Bl/6, подвергнутых хронической внутриутробной гипоксии. 147
ПРИЛОЖЕНИЕ В (обязательное) Ультраструктурная организация клетки Купфера и характер экспрессии MMP-9 и TIMP-1 непаренхиматозными клетками печени у новорожденных мышей линий СВА и С57Bl/6, внутриутробно инфицированных С. *albicans*. 150

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность избранной темы

Более 60 % перинатальной патологии возникает в антенатальном периоде [10; 86; 122; 171].

Перинатальная гипоксия сопровождает большинство осложнений беременности [100], негативно сказывается на формировании сердечно-сосудистой системы [115], центральной нервной системы [97; 191], печени [86; 142], желудочно-кишечного тракта, мочевыделительной системы [19] развивающегося плода, влияет на жизнеспособность эмбрионов и новорожденных [8; 18; 31].

Существенную роль в антенатальной патологии играет и внутриутробная инфекция, возбудители которой способны преодолевать плацентарный барьер, что приводит к развитию патологии плаценты и, в дальнейшем, плода [42; 71; 91; 165]. В России подтвержденная частота перинатальной смертности в результате инфекционно-воспалительных процессов составляет около 10,1 %, уступая только внутриутробной асфиксии и врожденным аномалиям [13]. Грибковые инфекции занимают особое место в инфекционных заболеваниях, сопровождаются хронизацией процесса, когда иммунная система не в состоянии самостоятельно уничтожить грибковые клетки [86; 117]. Генерализованный кандидоз – частое осложнение у новорожденных и основная проблема отделений интенсивной терапии новорожденных [117].

Удобным объектом для исследования индивидуальных особенностей реагирования систем организма на однотипные воздействия являются генетически отличающиеся линии лабораторных животных. Моделирование патологического процесса на животных разных линий позволяет оценить вклад генетического фактора в развитие патологических и физиологических процессов, в том числе, на выбор адаптационной стратегии [50; 79; 85; 86; 96; 166; 255].

Мыши инбредных линий СВА и С57В1/6, широко используемые в экспериментах, являются оппозитными по ряду иммунных [50], эндокринных и

морфологических параметров [85; 96], поведенческих характеристик [28], стресс-реактивности [145], обладают различной чувствительностью к инфекционным агентам, таким как *C. albicans, M. tuberculosis* [50; 87; 166; 255].

Печени принадлежит важная роль в механизмах защиты плода, поскольку печень плода является первым органом, куда попадают все трофические субстраты и микроорганизмы, поступающие к плоду от матери[86].

Клетки Купфера (КК), располагаясь внутри синусоидных капилляров печени, выполняют функцию фагоцитоза и инактивации эндотоксинов, микроорганизмов, поступающих в печень посредством венозного кровотока. При этом отмечается, что активированные КК запускают целый ряд процессов: осуществляют взаимодействие с гепатоцитами и другими клетками печени, секретируя различные биологически активные медиаторы (цитокины, хемокины, эйкозаноиды), протеолитические ферменты, металлопротеазы и их ингибиторы, активные формы кислорода и оксид азота [88; 149; 150], привлечение и удержание нерезидентных клеток в печень, таких как, нейтрофилы, Т-лимфоциты, NK клетки, моноциты [90]. Клетки Купфера выполняют индуцирующую и регулирующую роль, вектор которой в значительной мере зависит от резервов адаптации этих клеток (КК) к воздействию повреждающих факторов [88; 149].

Известно, что фагоцитоз макрофагами, в том числе и клетками Купфера, сопряжен с активацией ими синтеза и секреции различных протеаз, среди которых представляют интерес матриксные [43].

ММР-9 относят к одному из ключевых ферментов, принимающих участие как в воспалительных, так и в заключительных репаративно – восстановительных процессах, сопровождающихся синтезом коллагена в различных тканях [222; 232]. Немалую роль в исходе таких процессов играет дисбаланс в системе протеолиз / антипротеолиз, а именно, матриксных металлопротеиназ (MMPs) и их ингибиторов (TIMPs) [234; 237; 263], нарушение равновесия которых отражается в структурных изменениях ткани и клеток печени [124].

Вместе с тем взаимосвязи между ультраструктурной организацией клеток Купфера и экспрессией MMPs и их TIMPs непаренхиматозными клетками печени

при наиболее распространенных перинатальных патологиях (внутриутробная гипоксия и кандидозное инфицирование) остаются малоизученными. Поэтому необходим комплексный подход к исследованию реагирования КК и MMPs / TIMPs на внутриутробную патологию в печени мышей с различным генотипом.

Степень разработанности темы диссертации

К настоящему времени большая часть данных, касающихся ультраструктуры клеток Купфера и роли MMPs в патогенезе повреждения печени, получена на взрослых пациентах или в эксперименте на половозрелых животных [125; 143; 215; 245; 257], и недостаточно соответствующих исследований, касающихся клеток Купфера в печени детей или новорожденных с учетом вклада индивидульных особенностей организма.

Поэтому вышеизложенные обстоятельства указывают на необходимость уточнения существующих сведений о влиянии хронической внутриутробной гипоксии и внутриутробного кандидозного инфицирования с учетом вклада индивидуальных особенностей организма на ультраструктурную организацию клеток Купфера и экспрессии MMPs и их TIMPs клетками печени.

Цель исследования

Изучить ультраструктурную организацию клеток Купфера, особенности экспрессии матриксной металлопротеиназы 9 (ММР-9) и тканевого ингибитора 1 типа (TIMP-1) гепатоцитами и непаренхиматозными клетками печени в условиях нормы, при хронической внутриутробной гипоксии и внутриутробном кандидозном инфицировании у новорожденных мышей линий СВА и С57В1/6.

Задачи исследования

1. Исследовать особенности ультраструктуры клеток Купфера печени у новорожденных мышей линий СВА и С57Bl/6 в условиях нормы.

2. Изучить характер изменений ультраструктуры клеток Купфера печени у новорожденных мышей линий СВА и С57В1/6, подвергнутых хронической внутриутробной гипоксии.

3. Изучить изменения ультраструктуры клеток Купфера у новорожденных мышей линий СВА и С57В1/6, внутриутробно инфицированных С. *albicans*.

4. Оценить особенности экспрессии матриксной металлопротеиназы 9 и тканевого ингибитора 1 гепатоцитами и непаренхиматозными клетками печени у новорожденных мышей линий СВА и С57В1/6 в условиях нормы и после хронической внутриутробной гипоксии, внутриутробного кандидозного инфицирования.

Научная новизна

Впервые установлено, что у новорожденных мышей линий СВА и С57Bl/6 ультраструктурная организации КК, экспрессия MMP-9, TIMP-1 непаренхиматозными клетками печени, как в условиях нормы, так и после внутриутробной патологии, имеют межлинейные различия.

Впервые показано, что у новорожденных мышей линии СВА при хронической внутриутробной гипоксии и внутриутробном кандидозном инфицировании компенсаторные процессы проявляются сохранением объема мембран гранулярной эндоплазматической сети и митохондрий в КК. У новорожденных мышей линии С57В1/6 при внутриутробной патологии в КК имело место снижение показателей мембран органелл, характеризующих белково-синтетический и энергообразующий аппараты клетки.

Впервые доказано, что при внутриутробном кандидозном инфицировании в КК у новорожденных мышей линий СВА и С57Bl/6 имеется значительное увеличение объемной плотности вакуолярного аппарата за счет фагосом, в том числе с персистенцией грибов *C. albicans*, более выраженном у новорожденных мышей линии С57Bl/6, что, может создавать предпосылки для генерализации кандидозного инфекционного процесса.

Впервые в сравнительном аспекте продемонстрировано, что в печени у новорожденных мышей линии СВА и С57В1/6 при внутриутробной хронической гипоксии и внутриутробном инфицировании *C. albicans* наблюдается дисбаланс в системе протеолиз / антипротеолиз, проявляющийся в изменениях соотношения экспрессии MMP-9 / TIMP-1 непаранхиматозными клетками печени, которое зависит как от причин внутриутробной патологии, так и от линии животных.

Теоретическая и практическая значимость работы

Расширены представления о морфофункциональных особенностях КК и их возможного влияния на паренхиму печени новорожденных мышат линий СВА и С57Bl/6 при внутриутробной патологии.

Полученные данные об ультраструктурных изменениях в КК, характере экспрессии MMP-9, TIMP-1 и соотношении их экспрессий MMP-9 / TIMP-1 непаренхиматозными клетками печени могут быть полезны для понимания патогенеза внутриутробных гипоксии и кандидозного инфицирования у новорожденных, их (КК) влиянии на формирование структуры печени в постнатальном периоде, а также для разработки принципов профилактики и лечения некоторых перинатальных патологий, связанных с внутриутробной гипоксией и кандидозным инфицированием, с учетом индивидуальных особенностей организма.

Результаты исследования могут служить еще одним обоснованием необходимости учета индивидуальных особенностей реагирования плода и новорожденных на внутриутробную патологию (внутриутробное кандидозное инфицирование и внутриутробная хроническая гипоксия).

Методология и методы диссертационного исследования

Методологически работа построена на принципах системного анализа комплекса данных, включавших результаты морфометрического исследования ультраструктур КК (электронная микроскопия), иммуногистохимического исследования образцов печени, полученных от 60 однодневных мышат линий

CBA и C57Bl/6 после моделирования внутриутробного кандидозного инфицирования и внутриутробной хронической гипоксии. В работе использованы современные иммуногистохимические, морфометрические методы исследования, применены адекватные методы статистического анализа. Дизайн исследования согласуется с принципами проведения экспериментов на лабораторных животных. Работа проводилась с соблюдением правил научных исследований и основывалась на принципах биоэтики.

Положения, выносимые на защиту

1. Ультраструктурная организация клеток Купфера, экспрессия MMP-9, TIMP-1 непаренхиматозными клетками печени у новорожденных мышей линий CBA и C57Bl/6 в условиях нормы, при хронической внутриутробной гипоксии, внутриутробном кандидозном инфицировании имеют межлинейные различия.

2. Хроническая внутриутробная гипоксия, внутриутробное кандидозное инфицирование приводят к комплексу, как специфических, так и неспецифических изменений ультраструктурной организации клеток Купфера, касающимся ее белково-синтетического, энергопродуцирующего, вакуолярного аппаратов и дисбаланса в системе MMP-9 / TIMP-1 непаренхиматозными клетками печени у новорожденных мышей линий CBA и C57Bl/6.

Степень достоверности

Все использованные методические приемы и способы статистической обработки соответствуют поставленным цели и задачам, позволяют получить достоверные и доступные анализу результаты. Диссертация выполнена на достаточном экспериментальном материале с использованием сертифицированного оборудования, современных высокоинформативных методов морфологического исследования (электронная микроскопия, световая микроскопия, морфометрия, иммуногистохимическое исследование) и анализа результатов.

Апробация работы

Основные результаты работы были представлены на: VII Всероссийской научно-практической конференции «Фундаментальные аспекты компенсаторно-приспособительных процессов» (Новосибирск, 2015); Всероссийской конференции с международным участием «Современные подходы в клинико-морфологической диагностике и лечении заболеваний человека» (Санкт-Петербург, 2015); Всероссийской научно-практическая конференции «Актуальные вопросы патологической анатомии» (Новосибирск, 2015); XII международной конференции, посвященной 25-летию НИИКЭЛ «Лимфология: от фундаментальных исследований к медицинским технологиям» (Новосибирск, 2016); Всероссийской конференции с международным участием «Актуальные вопросы морфогенеза в норме и патологии» (Москва, 2016); II Международной морфологической научно-практической конкурс-конференции студентов и молодых ученых «Морфологические науки – фундаментальная основа медицины». (Новосибирск, 2017); IX Российской (итоговой) научно-практической конференции с международным участием студентов и молодых ученых «Авиценна-2018» (Новосибирск, 2018).

Диссертационная работа апробирована на заседании проблемной комиссии «Морфологические основы компенсаторно-приспособительных реауций» ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (Новосибирск, 2019).

Диссертация выполнена в соответствии с планом научно-исследовательской работы ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России «Изучение закономерностей развития нормальных и патологических процессов в организме при воздействии факторов экзо- и эндогенной природы: межклеточные и межсистемные взаимодействия при остром и хроническом воспалении, репаративной регенерации, онкогенезе, фиброзировании, дисплазии соединительной ткани; возможности диагностики, профилактики, лечения», номер государственной регистрации АААА-А15-115120910172-8.

Внедрение результатов исследования

Результаты диссертационного исследования внедрены в учебный процесс на кафедре патологической анатомии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России в темах «Перинатальная патология», «Воспаление», «Смерть клетки» и гистологии, цитологии и эмбриологии в теме «Печень», «Эмбриогенез печени».

Публикации

По теме диссертации опубликовано 13 научных работ, в том числе 5 статей в научных журналах и изданиях, которые включены в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, из них 1 статья в журнале, входящем в международную реферативную базу данных и систем цитирования (Scopus).

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 152 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 3 глав собственных данных, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы, списка иллюстративного материала и приложений. Список литературы представлен 285 источниками, из которых 130 в зарубежных изданиях. Полученные результаты проиллюстрированы с помощью 14 таблиц и 51 рисунка.

Личный вклад автора

Все исследования проводились при непосредственном участии автора: анализ данных отечественной и зарубежной литературы по теме диссертационного исследования, разработка дизайна и постановка экспериментов, сбор и систематизация первичного материала, морфометрия и анализ

статистической обработки полученного материала, подготовка научных докладов, написание статей и диссертации выполнено лично автором.

Вся работа с животными и гистологическое исследование тканей печени проводилось на базе кафедры патологической анатомии, электронная микроскопия – на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории (ЦНИЛ) ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Автор приносит благодарность доктору биологических наук, заведующему лабораторией клеточной биологии и фундаментальных основ репродукции ЦНИЛ ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России С. В. Айдагуловой и доктору медицинских наук, профессору кафедры патологической анатомии ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России Т. А. Агеевой за бесценный опыт совместной работы и предоставленную возможность освоения методических подходов к изготовлению препаратов.

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Патология перинатального периода

Причины, негативно влияющие на течение беременности и родов, многообразны [89; 98; 152]. Материнская инфекция, наличие хронических неинфекционных заболеваний (бронхиальная астма и сахарный диабет, сердечно-сосудистые заболевания), гестационные гипертензивные расстройства, антенатальная гипоксия ведут к значительным перинатальным потерям или патологиям дальнейшего развития плода [10; 116; 122; 261].

1.1.1 Влияние гипоксических состояний на развитие плода

Гипоксия плода является одним из основных факторов, обусловливающих дезинтеграционные процессы адаптации к внеутробной жизни [161].

Гипоксия плода может возникать как следствие различных патологических процессов в системе «мать – плацента – плод» [80; 86]. Многочисленные этиологические факторы, способствующие развитию гипоксии плода, можно разделить на 3 группы.

К 1-й группе относят экстрагенитальные заболевания матери: бронхолегочные с нарушением газообмена [196], сердечно-сосудистые (ревматизм, пороки сердца, нейроциркуляторная дистония, артериальная гипертензия), эндокринные (сахарный диабет, патология щитовидной железы, ожирение), хронические заболевания почек, печени, крови, онкологические заболевания, наркомания, алкоголизм [107], а также осложнения беременности и родов, при которых отмечается недостаток кислорода или избыток углекислого газа в организме матери [264]. Курение матерей [176; 229], диета с высоким содержанием жиров [218] уменьшают объем кровотока в матке, что приводит к гипоксии плодов и увеличению числа мертворождений.

Вторую группу, наиболее обширную, составляют нарушения плодово-плацентарного кровотока: сосудистые расстройства (при преэклампсии, аномалии родовой деятельности, перенашивании беременности), кровотечения (при угрожающих преждевременных родах, аномалиях расположения плаценты, преждевременной отслойке нормально расположенной плаценты, инфарктах плаценты), патология пуповины (обвитие вокруг шеи и туловища, выпадение и натяжение, узлы) и пр. [86; 87; 238].

В 3-ю группу включены заболевания плода: гемолитическая болезнь (обусловленная иммуннологическим конфликтом между матерью и ребенком, т.е., начинается внутриутробно), анемия, инфицирование, врожденные пороки сердца, другие аномалии развития [89].

Независимо от причины, вызвавшей гипоксическое состояние, в организме плода нарушаются функции всех органов и тканей [205]. В современной литературе достаточно подробно описаны морфологические изменения паренхимы печени [86], надпочечников [3], органов мочевыделительной системы [19; 83], яичников, яичек [84] при внутриутробной гипоксии.

Эффекты антенатальной гипоксии на организм ребенка зависят от тяжести ее воздействия, индивидуальной толерантности и сроков внутриутробного развития.

Скорость развития нарушений в органах зависит от степени чувствительности органа к гипоксии. Органы с высокой интенсивностью метаболических процессов и, следовательно, с высокой потребностью в кислороде по чувствительности к гипоксии ранжируются следующим образом: головной мозг > миокард > печень [6].

Гипоксия плода является одной из основных причин мозговых нарушений, встречающихся у плода [272], которые занимают ведущее место в структуре заболеваемости и смертности в раннем неонатальном периоде у детей [8; 18; 78; 118]. Уже через несколько секунд после острого гипоксического воздействия начинают страдать функции головного мозга [33], а при продолжительности ишемии мозга более 2 мин гибнут нейроны [21].

Перенесенная внутриутробная гипоксия может проявиться и в дальнейшей жизни ребенка, вызывая различные психоневрологические расстройства [97; 160; 214], влиять на двигательный, сенсорный, когнитивный и поведенческий статус ребенка [160], привести к развитию церебральных параличей [191].

Гипоксия на стадии органогенеза оказывает в постнатальном периоде развития стойкое влияние на сердечную деятельность [16], вызывая нарушения вегетативного баланса, программирование аномалий в развитии сердца [241], изменение коронарного кровотока с нарушением кровоснабжения участков эндокарда, папиллярных мышц и активацией гипертрофических и фибротических процессов [272] с формированием кардиального ремоделирования у плода [115].

В кардиомиоцитах при снижении напряжения кислорода в артериальной крови до 2–6 мм рт. ст. снижается электронтранспортная функция дыхательной цепи митохондрий [33], ишемия продолжительностью 10 мин и более вызывает необратимые повреждения ткани сердца [21].

Печень плода, по сравнению со всеми другими органами, получает наиболее оксигенированную кровь, что способствует ее быстрому развитию. В условиях гипоксии возрастает поток крови через венозный [102]. Это приводит к централизации кровообращения плода и переносу основного потока крови к мозгу и миокарду и, как следствие, к уменьшению притока к печени [102; 143].

Антенатальная гипоксия – частая причина дисфункции печени у новорожденных [26]. Результаты клинико-биохимического обследования новорожденных, перенесших гипоксию в перинатальном периоде, показывают, что ведущим в патогенезе печеночной дисфункции является повреждение структуры гепатоцитов [86] с последующим нарушением их функции.

Незрелые новорожденные с антенатальной гипоксией в анамнезе имеют повышенный риск развития печеночной декомпенсации. У таких новорожденных имеет место длительная транзиторная гипербилирубинемия вследствие незрелости печеночных систем конъюгации билирубина [278].

Патологические изменения гепатоцитов могут обусловить снижение свертывания крови в результате уменьшения синтеза протромбина, VII, IX, X

факторов и фибриногена, что может провоцировать геморрагическую болезнь новорожденных [7].

Постгипоксическая патология печени неонатального периода может иметь последствия в более поздние периоды онтогенеза в виде неалкогольного стеатогепатита [99], персистирующего повышения [217; 244], дефицита массы тела [86; 99].

Среди повреждающих механизмов гипоксии – активация липидной пероксидации [99; 184]. Гипоксия индуцирует повышение концентрации малонового диальдегида (МДА), угнетает активность ферментов антиоксидантной защиты (Mn-супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и каталазы) в печени [15; 99], в мозговой ткани [137] и ткани сердца [6].

Резерв глутатиона в клетке также играет существенную роль в обеспечении антиоксидантной защиты. Взаимодействуя с различными субстанциями, ферментативными и неферментативными путями, он защищает внутриклеточные компартменты от действия активных форм кислорода, повышает общую резистентность клеток, участвует в метаболизме чужеродных соединений, восстанавливает и изомеризует дисульфидные связи, изменяет активность ферментов и других белков и т.д. [212].

Подобное изменение в системе «прооксиданты-антиоксиданты» обозначают термином «окислительный стресс». Результатом «окислительного стресса» в печени являются деструктивные процессы [15; 94]. У детей, рожденных в асфиксии различной степени тяжести и погибших на 1–3 сутки после родов, при гистологическом исследовании печени обнаруживается обилие очагов экстрамедуллярного кроветворения, очаговая жировая дистрофия печени, выраженное расстройство кровообращения в виде полнокровия центральных вен и прилегающих синусоидов, обеднение гепатоцитов гликогеном, фиброз стромы. Нередко отмечается нарушение архитектоники желчных капилляров, их ветвление, неравномерное расширение [86].

При этом возникает синдром цитолиза, который выражается в повышении активности трансаминаз: аланинаминотрансферазы, лактатдегидрогеназы,

гаммаглютамилтраснпептидазы и общего билирубина; снижении концентрации альбуминов, фибриногена в плазме крови [29].

Активированные кислородные метаболиты являются не только повреждающими факторами, но и участниками пара- и аутокринной регуляции [27], регуляции метаболических процессов в качестве внутриклеточных мессенджеров [27]. Доказано участие активированных кислородных метаболитов в регуляции пролиферации, дифференцировки и гибели клеток [15; 94].

Гипоксическое внутриутробное воздействие вызывает гибель гепатоцитов путем активации Fas-зависимого апоптоза преимущественно в перивенозной зоне [254]. С другой стороны, гипоксия активирует в гепатоцитах экспрессию генов, которые обеспечивают адаптацию клеток и тканей к низкому содержанию кислорода. Например, индуцируемые гипоксией транскрипционные факторы (hypoxia-inducible factors – HIFs) – важные компоненты клеточного ответа на гипоксический стресс. HIF-1 приспосабливает клетки к гипоксии, переключая с аэробного на анаэробный метаболизм [108].

Перемежающаяся гипоксия и реоксигенация вызывает в печени белых крыс возрастание активности транскрипционного фактора NF-κB, который является важным элементом в передаче пролиферативного и антиапоптотического сигналов. Активированные кислородные метаболиты индуцируют в гепатоцитах человека стрессиндуцируемый p38 MAPK / ERK-Akt каскад [170]. Показана роль p38 в регуляции клеточного роста и пролиферации гепатоцитов в ответ на гипоксию и окислительный стресс [240].

Различная чувствительность к гипоксии проявляется и на организменном уровне: широко известно, что в пределах одного вида существуют животные с разной индивидуальной резистентностью к гипоксии [63]. Мобилизация защитно-компенсаторных механизмов, формирующихся на разных уровнях организации и позволяющих минимизировать последствия нарушения кислородного гомеостаза, значительно эффективнее осуществляется у животных с генетически детерминированной высокой устойчивостью к недостатку кислорода [63; 72].

Так, в условиях гипоксии у низкоустойчивых крыс подавляется активность ферментов антиоксидантной защиты значительно сильнее, чем у высокоустойчивых и среднеустойчивых. В то же время критически низкие уровни кислорода в тканях лимитируют интенсивность процессов свободнорадикального окисления, что позволяет низкоустойчивым животным пережить воздействие экстремальной гипоксии [6].

1.1.2 Влияние внутриутробных инфекций на развитие плода и новорожденного

Инфекционная патология в структуре заболеваемости неонатального периода занимает 2-3 место [87; 89; 91;142], уступая внутриутробной гипоксии, асфиксии, респираторным расстройствам и врожденным аномалиям [11; 49]. При этом, под диагнозами «асфиксия» и «родовая травма центральной нервной системы» нередко скрывается та же инфекционная патология, поскольку внутриутробные инфекции часто протекают с клинической картиной гипоксического состояния [8; 57]. Наличие у беременной очагов инфекции является фактором риска для развития различных патологических состояний плода и новорожденного, в том числе гипоксии, гипотрофии, потери беременности и плацентарной недостаточности [86, 91; 142; 204], неблагоприятных экологических факторов [89].

Актуальность проблемы внутриутробных инфекций обусловлена не только существенными пери- и постнатальными потерями, но и тем, что у детей, перенесших тяжелые формы врожденной инфекции, часто развиваются серьезные нарушения здоровья, нередко приводящие к инвалидизации и снижению качества жизни в целом [12; 49; 204].

Легкие, желудочно-кишечный тракт и кожа плода, контактирующие с амниотической жидкостью, являются наиболее вероятными мишенями патогена с последующим развитием в них инфекционно-воспалительного процесса. Имеются исследования, демонстрирующие связь пренатальных инфекций с известными

неонатальными заболеваниями, такими как респираторный дистресс-синдром, бронхолегочная дисплазия и некротизирующий энтероколит [204], нарушение реактивности сердечно-сосудистой системы плода и, как следствие, повышенный уровень заболеваемости детей в раннем неонатальном периоде [46; 71], а также в детском [86] и взрослом [243] возрасте.

В подавляющем большинстве случаев источником инфекции для плода является мать (хронические инфекционные заболевания верхних дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта, мочевыделительной системы и т. д.) [71; 223]. Но даже если заболевание матери не сопровождается проникновением возбудителя в организм плода, возможно токсическое действие продуктов жизнедеятельности возбудителей инфекционного заболевания [12; 49; 204].

Показано, что частота выявления инфекционных поражений последа значительно выше частоты проявлений внутриутробных инфекций [42; 164], что указывает на защитную роль плаценты и ее участие в патогенетическом механизме формирования внутриутробных инфекций [86; 87].

При восходящем инфицировании имеет значение состояние фильтрационных свойств плодных оболочек, а также тех лейкотропных веществ, которые по мере размножения бактерий накапливаются в околоплодной жидкости и выступают в качестве первичных медиаторов воспалительной реакции [42; 110].

Поражения плода могут быть вызваны различными микроорганизмами [9]: бактериями (листерии, трепонемы, микобактерии, клебсиеллы, стрептококки группы В); вирусами краснухи варицелла-зостер, герпес-вирусами типа 4 и типа 6, цитомегаловирусами [57; 65; 66; 67; 154], микоплазмами [42]; простейшими, в том числе латентным токсоплазмозом [165]; грибами [4; 135].

При анализе аутопсий детей установлено, что *Enterococcus faecalis* выявлены у 21 %; *Mycoplasma* – 8 %; *Candida albicans* – 8 %; *Pseudomonas aeruginosa* – 6 %; *Escherichia coli* – 6 %; *Klebsiella oxytoca* – 4,8 %; *Candida krusei* - 3,6 %; Staphylococcus epidermidis – 3,6 %; *Klebsiella pneumoniae* – 3,6 %; *Acinetobacter haemolyticus* – 2,4 %; *Klebsiella mobilis* – 1,2 % и другие [9].

В настоящее время наблюдают отчетливое увеличение этиологической роли грибов рода *Candida spp*. в педиатрической практике [9; 117; 162], среди которых ведущее место в патологии у новорожденных детей принадлежит *Candida albicans* – 75–94 % [4], реже – *Candida tropicalis* – 1–5 %, *Candida krusei, Candida pseudotropicalis* [9; 117].

Генерализованный кандидоз – частое осложнение у новорожденных и основная проблема отделений интенсивной терапии [134; 162; 165].

В результате кандидозной инфекции у беременных женщин в 1,5 раза увеличивается угроза прерывания беременности, в 2,0–2,4 раза, отмечаются случаи мертворождений и неонатального сепсиса [177], а также и рождения детей (плодов) с низкой массой тела [10; 49].

Патогенность *Candida albicans* обусловлена способностью расщеплять секреторный иммуноглобулин А, α-1-антитрипсин, а также фосфолипазной, плазмокоагулазной, лизоцимной и дерматонекротической активностью, цитотоксичностью по отношению к мононуклеарам и способностью адгезии к тканям. Уже с первых минут взаимодействия организма с грибом происходит адгезия последнего к эпителию, что и определяет начало колонизации и инвазии гриба в макроорганизм [177].

Наибольшую значимость в развитии инфекционно-воспалительных заболеваний новорожденных приобрели заболевания кожи, легких, слизистых, желудочно-кишечного тракта (с первых дней возникают проблемы энтерального питания) и центральной нервной системы (ЦНС) [117; 162; 183]. При этом кандидоз ЦНС составляет 14,9 % всех случаев инфекционного поражения ЦНС у новорожденных, в том числе недоношенных детей, а летальность достигает 50-56 % [117].

Характер этих поражений во многом определяется генезом инфицирования: гематогенный, восходящий путь или в родах в результате аспирации содержимым родовых путей [45; 103] и сроком гестации, когда произошло заражение плода *Candida albicans*. Значительно увеличивают риск развития также такие факторы, как вес при рождении < 750 г, использование в первые 3 дня жизни антибиотиков,

особенно из группы цефалоспоринов, и введение энтерального питания только после третьего дня жизни [242].

Инфекция проходит вертикально только в редких случаях, когда инфицированы плацента, пуповина. Об этом свидетельствуют экспериментальные работы, которые выявили, что через неизмененную плаценту при неповрежденном синцитии грибы не проходят. При внутривенном заражении беременных белых мышей грибами, последние оседали только там, где отсутствовал синтиций, т. е. на пластине хориона и децидуальной оболочке. В ворсинках хориона грибы не обнаруживались и, следовательно, не попадали в сосуды плода. В дальнейшем псевдомицелии гриба прорастали пластинки хориона и децидуальную оболочку и проникали в околоплодную жидкость [86; 87].

На ранних сроках, до 28–29 недель, при гематогенно-плацентарном инфицировании развиваются, как правило, тяжелые поражения головного мозга в виде менингита, менингоэнцефалита, вентрикулита или диссеминированные формы кандидоза, приводящие к выкидышу, мертворождению или ранней гибели новорожденного [86]. У детей с грибковой инфекцией неонатальный период коррелирует со значительной степенью расстройств неврологического развития, обнаруживаемых в течение первых 18–22 месяцев жизни. К ним относятся, прежде всего, церебральный паралич, зрительные нарушения, включая предретинопатию, потерю слуха и снижение показателя развития < 70 в тесте Бейли [163].

При восходящем пути заражения на сроках гестации свыше 36 недель возможны локальные проявления кандидоза в виде распространенного поражения кожи.

Надеевым А. П. с соавт. [91] было показано, что у мышей, перенесших внутриутробно гипоксию, в отдалённом постнатальном периоде (1-й и 2-й месяц жизни) не только сохраняются деструктивные процессы в паренхиме печени, низкая активность репаративных процессов гепатоцитов, дефицит массы тела, но и при дополнительном инфицировании вакциной БЦЖ или *C. albicans,* у мышей,

перенесшими ХВУГ, наблюдали более медленную динамику процессов подавления микобактерий туберкулёза или, соответственно, *C. albicans* и «затяжной характер» деструктивно-воспалительных процессов в печени мышей в сравнении с животными контрольной группы. У мышей, перенесших внутриутробное гематогенное кандидозное инфицирование, дополнительное инфицированние в отдаленный постанатальный период вакциной БЦЖ или *C. albicans* существенно ухудшало прогноз «спонтанного» развития инфекционного процесса, деструктивных и репаративных процессов в печени [86; 91].

Таким образом, внутриутробная инфекция является значимым повреждающим фактором для развития ряда органов плода и новорожденых. Следует отметить, что инфекции (ранний стрептококковый (группы В) сепсис и/или поздний кандидозный) развиваются не у всех плодов и новорожденных, только у некоторых [204]. Поэтому изучение индивидуальных особенностей позволит сделать заключение о генетической детерминации масштабов альтеративных и репаративных процессов и определить патологические отклонения в отдаленный постнатальный период.

1.2 Структурная организация печени плода и новорожденного. Макрофаги печени

Морфофункциональной характеристике паренхимы печени посвящены многочисленные монографии и обзоры [15; 86; 99; 199; 210].

Структура печени млекопитающих преимущественно формируется в антенатальном и раннем постнатальном периодах. В антенатальном онтогенезе в печени млекопитающих параллельно протекают два взаимосвязанных гистогенетических процесса: формирование популяции гепатоцитов и выполнение функции кроветворения [48]. Сигналом к переключению печени плода на созревание является уменьшение ее гемопоэтической функции, вследствие развития костномозгового кроветворения [186].

Рост печени млекопитающих осуществляется путем пролиферации, полиплоидизации и гипертрофии гепатоцитов [35]. Паренхима печени новорожденной крысы содержит диплоидные клетки (99 % всей клеточной популяции), которые интенсивно делятся, увеличивая свою численность [15].

Синусоидальные клетки печени являются «первой линией обороны» при встрече с различными патогенами, токсинами и другими повреждающими факторами. В настоящее время к синусоидальным клеткам печени относят эндотелиальные клетки синусоидов, звездчатые клетки печени (клетки Ито), звездчатые ретикулоэндотелиоциты, или КК, Pit-клетки и дендритные клетки. Синусоидальные клетки печени составляют около 33 % от клеточного состава печени, при этом доля эндотелиальных клеток синусоидов достигает 70 %, клеток Ито – 10 %, клеток Купфера (КК) – 20 %, Pit⁻клеток - < 1 % [228].

Ключевым регуляторным фактором, обеспечивающим интегративную функцию между тканевыми составляющими внутри печеночной дольки, являются макрофаги, выявляющие морфотипическую и функциональную гетерогенность [56; 259; 260]. В зависимости от приоритета скэвенджерной функции или секреции цитокинов современными исследованиями установлены два основных морфотипа [169]. По функциональной составляющей макрофаги M_1 являются провоспалительными, а M_2, оказывая противоположный эффект, участвуют в регенерации. Клетки Купфера относятся к M_2 типу, в случае повреждения секретируют факторы, вызывающие рекрутирование моноцитов и лейкоцитов, играют фундаментальную роль в гомеостазе, иммунном надзоре и восстановлении тканей печени [268].

В зависимости от происхождения, выделяют резидентные макрофаги, мигрировавшие в процессе эмбриогенеза из желточного мешка и моноцитарного – из костного мозга [210]. Циркулирующие моноциты крови могут инфильтрировать печень и превращаться в макрофаги, что характерно для повреждения печени [169; 201]. В физиологических условиях макрофаги в печени преимущественно развиваются из резидентных стволовых [156; 185; 269], приспосабливаются к местному микроокружению [180; 267] и обновляют свою

популяцию в устойчивом состоянии локально на протяжении всей взрослой жизни без какого-либо минимального вклада гематопоэтических предшественников или моноцитов крови [185; 256; 270].

Большинство исследователей называют эти печеночные макрофаги клетками Купфера, для того, чтобы отделить резидентные макрофаги от клеток инфильтрующих ткани (моноциты костномозгового происхождения) [169; 259]. Предложен маркер для человеческих тканьрезидентных макрофагов – CD163L, в то время как CLEC5A может идентифицировать провоспалительные макрофаги костномозгового происхождения [193]. У мышей КК можно отличить от моноцитов как низкоклеточную популяцию Ly6C с низким уровнем CD11b.

Выделяют две функциональные группы КК: одну с более высокой способностью к фагоцитозу и одну с предпочтением в отношении продукции цитокинов [169].

Как и все тканевые резидентные макрофаги, КК экспрессируют широкий ассортимент рецепторов для распознавания патогенных микроорганизмов, воспалительных процессов и рецепторы – «мусорщики». С помощью рецепторов – «мусорщиков» КК участвуют в очистке от апоптозных клеточных остатков и играют центральную роль в гомеостазе железа [187]. КК взаимодействуют с множеством иммунных клеток в синусоидах [187; 192], после распознавания любых сигналов «опасности» КК управляют притоком воспалительных лейкоцитов, таких как нейтрофилы и моноциты [268].

1.2.1 Ультраструктура клетки Купфера

Клетка Купфера – крупные клетки неправильной формы, цитоплазма их образует многочисленные псевдоподии как в сторону просвета синусоида, так и в сторону гепатоцитов. Они располагаются поодиночке, не образуя локальных скоплений. Чаще они содержат крупные ядра со множеством инвагинаций, преобладанием эухроматина и 2-3 мелкими ядрышками [56; 268].

Отличительной особенностью этих клеток является наличие «пушистого» покрытия (fuzzy coat), или гликокаликса, на наружной поверхности плазмолеммы [236; 283]. С гликокаликсом связывают наличие на поверхности КК рецепторов к Ig G и C_3 компонента системы комплемента [236].

Этот слой играет большую роль в процессах эндоцитоза. Основными структурами эндоцитоза являются гладкие пиноцитозные вакуоли (диаметром от 1 мкм и более), червеобразные структуры (диаметром 0,14 мкм), представляющие собой участки инвагинированной цитоплазматической мембраны со слоем гликокаликса внутри, щетинистые (bristle coated) микропиноцитозные везикулы (диаметром 0,1 мкм), структуры, обеспечивающие фагоцитоз с помощью псевдоподий, и макропиноцитозные везикулы (диаметром 0,7 мкм) [143; 283].

Выделяют несколько ультраструктурних вариантов КК. В интактной печени взрослых млекопитающих преобладают КК, имеющие относительно «спокойную» ультраструктуру. Они не образуют большого числа псевдоподий, но содержат много червеобразных структур и щетинистых везикул, ответственных за транспорт белков. В цитоплазме повышено содержание полисом и мембраносвязанных рибосом, много мелких первичных лизосом. Остаточные тельца (результат переваривания во вторичной лизосоме) практически отсутствуют. Такие КК можно рассматривать как потенциально активные клетки [143; 268; 283].

Активация макрофагальной функции КК проявляется в увеличении числа и размеров псевдоподий и фаголизосом, появлении остаточных телец. При этом значительно реже наблюдаются червеобразные структуры, а также первичные лизосомы [143; 268; 283].

Встречаются также КК с признаками функционального истощения. Это крупные клетки без псевдоподий, со светлой цитоплазмой, перегруженные остаточными тельцами. В их цитоплазме выявляются лишь единичные органеллы, набухшие митохондрии, нередко отмечается фрагментация ядерного хроматина, разрушение плазматической мембраны [143; 236; 283].

1.2.2 Механизмы регуляторных воздействий клеток Купфера на гепатоциты

Фагоцитоз является основной функцией и морфологическим маркером КК, которые играют центральную роль как в поддержании иммунологической толерантности и гомеостаза в печени, [194; 210], так и патогенезе острого или хронического повреждения печени, репарации ее ткани, прогрессии или регрессии фиброза [179; 199; 207].

Фагоцитоз сопровождается активацией КК с последующим переходом их в праймированное (активное) состояние – усиливается выброс в синусоиды медиаторов, посредством которых осуществляется регулирование физиологических функций гепатоцитов [207]. Особенностью регулирующего действия является большое разнообразие медиаторов, выделяемых активированными КК: лизосомальные ферменты [125], цитокины [260], трансформирующий фактор роста, простагландины [58], тромбоксаны и лейкотриены [173], активные формы кислорода [173; 281] и азота и, тем самым, мобилизуют энергетические резервы гепатоцитов, необходимые для борьбы с инфекционным агентом, завершенности патологического процесса [197].

В тоже время КК могут повреждать гепатоциты и даже вызывать их гибель при участии выделяемых ими медиаторов вазоконстрикторного действия [253], провоспалительных цитокинов, таких как ФНОα, ИЛ‑1β, ИЛ-6, ИЛ-10 [213], простагландинов, протеаз, активных форм кислорода и азота [252] или же, напротив, защищают эти клетки от повреждения [150; 245; 252] и даже стимулируют их пролиферацию [149; 206].

В соответствии с действием активированных КК на гепатоциты выделяют 4 основных типа регуляторных механизмов: прямой характер воздействия медиаторов КК на гепатоциты [149; 197; 202; 260]; опосредованные типы регуляции – «КК – звездчатая клетка – гепатоцит» [276] и «КК – гепатоцит – гепатоцит». Последний реализуется в результате инициации у гепатоцитов гиперметаболического состояния [63; 150; 151; 158; 178; 271] либо через

тканеспецифичный эффектор комутон, отличающийся избирательным действием на митохондрии гепатоцитов [151].

Таким образом, активированные КК выполняют функцию модулирования резистентности гепатоцитов, оказывая на последние как повреждающее, так и протективное действие [194; 210]. Как следствие, возникают условия для селекции гепатоцитов по критерию неспецифической резистентности, т. к. можно допустить, что активированные КК способствуют гибели наиболее поврежденных клеток и стимулируют пролиферацию неповрежденных [149].

Многочисленными исследованиями доказано, что любой патологический процесс, какой бы степенью функциональных нарушений он не проявлялся, начинается на уровне ультраструктур, то есть субклеточном уровне [5; 125].

Данные литературы о влиянии КК на адаптацию клеток и тканей печени к низкому содержанию кислорода или грибковой инфекции, в зависимости от генетических особенностей новорожденных, перенесших ХВУГ недостаточны и противоречивы, что определяет необходимость дальнейшего изучения этого вопроса.

1.3 Межлинейные различия морфофункциональных параметров органов и систем у мышей линий СВА и С57Bl/6

Современный уровень развития технологий заставляет все чаще учитывать индивидуальные особенности реакций организма на воздействие экстремальных факторов, в том числе внутриутробных патологий. Ответом на любое экстремальное воздействие является активация общих систем адаптации, однако скорость их развития, а главное, степень истощения компенсаторных реакций могут различаться [50; 79; 85; 86; 143; 166; 255]. Именно от этих особенностей, в конечном счете, зависит жизнеспособность организмов. Определение индивидуальных адаптивных особенностей человека затруднено ввиду значительного генотипического разнообразия и проводится, в основном, на физиологическом уровне с использованием нагрузочных тестов.

Выведение инбредных линий лабораторных животных, начатое в XX веке генетиками и онкологами, создало предпосылки для перехода биомедицинских исследований на качественно более высокий уровень. Широкое использование инбредных линий практически во всех областях биологии и экспериментальной медицины обусловлено их уникальной особенностью – все животные в пределах линии гомозиготны и генетически однородны. Это обеспечивает воспроизводимость результатов, повышает эффективность и надежность медико-биологических исследований, проводимых с их использованием [79; 92].

Удобным объектом для исследования индивидуальных особенностей реагирования систем организма на однотипные воздействия являются генетически отличающиеся линии лабораторных мышей. Моделирование патологического процесса на животных разных линий позволяет оценить вклад генетического фактора в развитие адаптации и выбор адаптационной стратегии [50; 79; 85; 86; 143; 166; 255].

Мыши инбредных линий СВА и С57В1/6, широко используемые в экспериментах, различаются по ряду иммунных [17; 23; 32; 50], эндокринных [143] параметров, поведенческих характеристик [14; 25; 28; 139; 146], стресс-реактивности [129; 143; 211], реактивности центрального и периферического компартментов системы мононуклеарных фагоцитов [86] и прежде всего по структурной организации печени (объемам дистрофических и некротических изменений, масштабам фиброзирования, уровню репаративной регенерации) [85], почек [96].

Шкурупий В. А. с соавторами [85] указывают на более высокую (в количественном отношении) мощность системы мононуклеарных фагоцитов легочного компартмента у 2-месячных интактных мышей линии С57Bl/6, посравнению с мышами линии СВА.

Масной Н. В. с соавторами [93] выявлены различия и в реагировании костномозгового кроветворения: у мышей линии CBA/CaLac наблюдалась стимуляция всех ростков кроветворения на тимусзависимый антиген, а у мышей линии С57Bl/6 – уменьшалось количество лимфоидных и эритроидных клеток, но

увеличивалось содержание миелоидных. Применение циклофосфана приводило к снижению числа лимфоидных клеток в тимусе у мышей линий СВА/CaLac, у мышей линии С57Bl/6 их количество сохранялось в пределах контрольных значений. После введения тимусзависимого антигена у мышей линий СВА/CaLac, получивших циклофосфан, происходило более раннее восстановление морфологического состава клеток в кроветворных и лимфоидных органах по сравнению с мышами линии С57BL/6 [93].

Имеется немало данных литературы, посвященных индивидуальной чувствительности мышей этих линий к гипоксии [77; 78; 130]. Показаны различия в масштабах постгипоксических деструктивных изменений и уровнях выраженности репаративной регенерации гепатоцитов у мышей линий СВА и С57BL/6 [86].

Наблюдаемые межлинейные различия генетически определяются и способствуют типу адаптивных процессов (по клеточному (Th_1) или гуморальному (Th_2)) и различной чувствительности этих мышей к патогенным агентам [3; 50; 55; 86; 255].

Авербах М. М. с соавторами [3] показали, что линии инбредных мышей С57Bl/6 и BALB/C проявили себя как чувствительные, а линии A/Sn и DBA/2 – резистентные к внутривенному заражению *M. avium*.

Надеев А. П. с соавторами [86] показали значение генетической детерминации на ответ системы мононуклеарных фагоцитов у мышей оппозитных линий при экспериментальном туберкулезе. Результаты экспериментальных исследований на мышах линий СВА и С57Bl/6 с врожденной инфекцией в сочетании с бактериальной (БЦЖ) или кандидозной инфекцией демонстрируют не только сходные изменения в печени, почках, но и генетическую зависимость [86; 96].

Адекватное реагирование системы мононуклеарных фагоцитов на вакцину БЦЖ, проявляющееся мобилизацией мононуклеарных клеток из клеточных депо через 1 месяц после заражения, приводило к более эффективному отграничению и уничтожению части возбудителя в тканях у мышей линии СВА. Мыши линии

C57Bl/6 показали более низкие репаративные возможности печени [86]. Тогда как, Кисленко В. Н. с соавторами [114] показали, что линия СВА высокочувствительна к заражению БЦЖ (в показателях количества гранулем и их диаметре) в отличие от мышей линии C57Bl/6, которые обладают низкой чувствительностью.

Шкурупий В. А. с соавторами [96] выявили особенности развития кандидозного гранулематоза в почках у мышей линий СВА и C57Bl/6 – у животных линии СВА масштабы гранулематозного воспаления были большими. Различия в динамике нормализации структурной организации почек после инфицирования *C. albicans* и лечения амфотерицином В, композицией амфотерицина В с окисленным декстраном, также имели генетическую приверженность и лечение успешнее происходило у мышей линии СВА [96].

Аналогичные результы показали Курилин В. В. с соавторами [136] – *Candida albicans*- индуцированное гранулематозное воспаление в печени характеризовалось большей интенсивностью и выраженностью гранулемогенеза в печени мышей линии C57Bl/6, чем у СВА. У животных разных линий гранулемы в печени отличались по клеточному составу. Относительное содержание эпителиоидных клеток в гранулеме печени мышей линии C57BL/6 достоверно выше, а макрофагов – ниже, чем у мышей линии СВА, в периферической крови и очаге воспаления мыши линии C57Bl/ 6 в отличие от мышей линии СВА имели большее количество нейтрофильных гранулоцитов.

Функциональное состояние фагоцитирующих клеток крови, костного мозга и перитонеальной полости в динамике *Candida albicans*-индуцированных гранулем в печени мышей линии C57Bl/6, по хемилюминесцентному ответу, характеризуется достоверным снижением, на ранних сроках (10 сут), с последующим увеличением данного показателя, начиная с 28 сут наблюдения. У мышей линии СВА хемилюминесцентный ответ этих клеток постепенно повышается, достоверно превышая контрольные значения на 28 и 56 сут после индукции *Candida albicans*-индуцированных гранулем [136].

Несмотря на большой массив исследований, касающихся различных аспектов реактивности животных с разной индивидуальной устойчивостью к гипоксии и кандидозной инфекции, нет единого мнения в оценке механизмов функционально-морфологических особенностей развития последствий дефицита кислорода и кандидозной инфекции, проявляющихся в раннем периоде. Анализ генотипзависимых особенностей реагирования на воздействие экстремальных факторов среды, такие как хроническая внутриутробная гипоксия (ХВУГ) и внутриутробное кандидозное инфицирование, имеет существенное значение для оценки возможного механизма повреждения ряда органов и, в первую очередь, печени плода и новорожденых

Печень является первым органом, куда попадают все трофические субстраты, микроорганизмы и/или их токсины, поступающие к плоду от матери [86; 195] и от ее морфофункционального состояния может зависеть исход адаптации плода.

1.4 Матриксная металлопротеиназа-9 и тканевой ингибитор металлопротеиназ-1, их роль в физиологических и патологических процессах

MMPs представляют собой семейство Zn-и Ca-зависимых эндопептидаз, которые имеют общие функциональные домены, механизмы активации и совместно гидролизуют все компоненты внеклеточного матрикса при нейтральных значениях pH [232; 246]. К настоящему времени известно 28 представителей семейства MMPs, для условного обозначения которых даются числовые названия (MMPs-1 – 28). На основании данных структурной организации и субстратной специфичности в семействе MMPs выделены 4 подсемейства: коллагеназы (MMPs-1, -8, -13, -18), желатиназы (MMPs-2, -9), стромелизины (MMPs-3, -7, -10, -11) и неклассифицированные (включая мембранного типа) MMPs [102; 155].

Активность MMPs ингибируется TIMPs и регулируется различными цитокинами и факторами роста, включая интерлейкины, интерфероны,

эпидермальный фактор роста, фактор роста нервов, основной фактор роста фибробластов, фактор роста эндотелия сосудов, тромбоцитарный фактор роста, фактор некроза опухоли α, трансформирующий фактор роста β и остеопонтин [38; 246; 251].

Имеются четыре известных тканевых ингибитора матриксных металлопротеиназ (TIMPs 1–4). TIMPs отличаются в своей специфичности ингибирования к определённым типам MMPs. В тоже время, любой из белков TIMPs может ингибировать практически любую коллагеназу, путем связывания в активном сайте и формирования стабильного, инактивного комплекса «фермент‑ингибитор», но с разным уровнем ингибирования в разных тканях [275]. TIMP-1 образует нековалентный комплекс со всеми активными MMPs за исключением MMPs -3, -5. Наибольшая аффинность — к MMPs -1, -2, -8, -9, -13, -18, стромелизину-1 [175; 182].

Концентрация TIMPs обычно зависит от концентрации MMPs в тканях и внеклеточной жидкости, ограничивая, таким образом, протеолитическую активность в фокальном околоклеточном пространстве. Транскрипция TIMPs регулируется теми же цитокинами и факторами роста, которые контролируют экспрессию MMPs, а именно TGFβ, TNFα, IL-1, IL-6, хотя часто посредством других путей [275].

Установлено, что MMPs играют важную роль в ряде физиологических и патологических процессов, включая эмбриогенез, периоды роста, развития и старения [47], заживление ран, воспаление [175; 182], сердечно-сосудистые болезни [37; 40; 225], болезни легких [128; 153], аутоиммунные [226; 230] и аллергические [203] реакции и др.

Один из ферментов этого семейства – MMP-9 (желатиназа B, 92 kDa) расщепляет декорин, эластин, фибриллин, желатин, природные коллагены IV, V, XI и XVI типов на большие C-концевые и меньшие N-концевые фрагменты. Желатиназа B, 92 kDa также активирует различные факторы роста, такие как pro-TGF-β и pro-TNF-α, однако не обладает активностью в отношении коллагена I типа, протеогликанов или ламининов [167; 228].

В норме ММР-9 экспрессируется трофобластами, остеокластами, нейтрофилами и макрофагами, в том числе КК, наибольшее количество экспрессируется полиморфноядерными лейкоцитами. При воздействии таких медиаторов, как факторы роста или цитокины, экспрессия ММР-9 может быть индуцирована и в клетках других типов: базофилами, гладкомышечными и эндотелиальными клетками [277].

ММР-9 может играть значимую роль в миграции лейкоцитов [45; 68; 69; 70; 103; 141], участвовать в костной остеокластической резорбции [111]. Усиление экспрессии ММР-9 наблюдается при артритах [101; 247], эмфиземе и туберкулёзе легких [128; 153], ишемической болезни сердца [40; 41; 73; 123; 131; 132]. Повышенная экспрессия ММР-9 часто наблюдается при инвазивных и высокозлокачественных опухолях [20; 35].

MMPs разрушают внеклеточный матрикс сосудов и стимулируют высвобождение VEGF, хорошо известного своими ангиогенными свойствам [224].

В литературе имеются данные о том, что концентрации MMPs и TIMPs в плазме крови матери и /или новорожденного ассоциированы с ухудшением состояния плода и новорожденного. Определение нормального и патологического паттерна концентраций MMPs и их TIMPsy беременной может быть использовано в качестве прогностического маркера риска невынашивания беременности или преждевременных родов, а также неблагоприятных попыток ЭКО [112].

Бениова С. Н. с соавторами [12] отмечали высокие уровни ММР-9 в плазме пуповинной крови у всех новорождённых с врождёнными пороками сердца и поражением нервной системы на фоне внутриутробной инфекции и у новорождённых с тяжёлым течением порока [49]. Выраженность изменений уровня сывороточных ММР-8 и ММР-9 коррелировала с тяжестью течения врожденной герпетической инфекции, что авторы предлагают расценивать как доклинические маркеры патологических проявлений врожденной инфекции [11; 12].

Сообщалось о том, что ММР-9 индуцировала отек мозга и постишемическое повреждение гематоэнцефалического барьера [222],

неврологические нарушения у новорожденных с асфиксией [221] и, напротив, ингибирование ММР-9 и нокаут гена ММР-9 в эксперименте снижали постишемическое повреждение мозга [222].

Увеличенные концентрации ММР-9 в плазме крови недоношенных новорожденных с гипоксией свидетельствуют об активации процессов разрушения внеклеточного матрикса кровеносных сосудов при перинатальной гипоксии у недоношенных новорожденных. Корреляция концентрации ММР-9 с баллами по шкале Апгар на 5-й мин может быть обусловлена зрелостью системы MMPs, как известно, нарастающей в период развития плода [156].

Регулирование активности ММР-9 может осуществляться не только под воздействием цитокинов, но и под влиянием неустойчивости антиоксидантной системы, действием гормонов, принадлежностью к полу, возрасту [47]. АФК являются регуляторами активности ряда ферментов, включая MMPs, а через окисление специфических тиольных групп белков могут изменять конформацию белковых факторов транскрипции, что приводит к их активации или ингибированию. В состоянии гипоксии в организме недоношенных новорожденных развивается окислитеьный стресс, обусловленный повышенной продукцией АФК и незрелостью антиоксидантной системы [174].

Кореновским Ю. В. с соавторами [51] обнаружен феномен корреляции между биохимическими признаками усиления процессов повреждения тканей недоношенных новорожденных (гестационный возраст 28–34 нед.) с перинатальной гипоксией (повышенный уровень ММР-9 и тиобарбитурат-реактивных продуктов) и антиоксидантным ферментом (супероксиддисмутаза), а также связи между уровнем этих молекул в пуповинной крови с клиническим состоянием новорожденных [51].

Кореновский Ю. В. с соавторами [51] показали, что повышенные концентрации ММР-1 в плазме крови были ассоциированы с ухудшением состояния плода и новорожденного. Тогда как уровень ММР-9 в плазме крови новорожденных без признаков гипоксии и новорожденных с перинатальной гипоксией к 3–4 суткам снизились, причем более высокие уровни ММР-9

отмечались в контрольной группе. Из чего Кореновский Ю. В. с соавторами [51] делают вывод, что высокие уровни ММР-9 в плазме пуповинной крови, при физиологической гипоксии плода и новорожденного в родах скорее отражают адаптацию к новым условиям жизни, чем активацию патологического процесса. При этом более высокие уровни TIMP-1 в пуповинной крови были ассоциированы с благоприятным исходом родов (перинатальное поражение ЦНС и результаты кардиотокографии) [51], что может объясняться ограничением TIMP-1 активности деструктивных MMPs [223].

Механизм деградации экстрацеллюлярного матрикса при фиброзном поражении печени связывают как с уровнями MMPs, так и их ингибиторов, главным образом TIMP-1, продуцируемых звездчатыми ретикулоцитами печени. При повторяющихся патогенных воздействиях фиброз превалирует вследствие подавления секреции и активности MMPs тканевыми ингибиторами MMPs [34].

Исследования о дисбалансе протеолитических / антипротеолитических ферментов в печени при перинатальной патологии у новороженных немногочисленны. В связи с этим представляется необходимым и перспективным дальнейшее изучение активностей ММР-1, TIMP-9 и их соотношения ММР-1 / TIMP, как потенциальных маркеров реализации внутриутробных гипоксии, инфекций и предикторов их исходов у новорожденных, направленное на создание основы для развития новых стратегий терапии врожденных нарушений.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Экспериментальные животные

Эксперименты выполнены на беременных мышах линий СВА и С57BL/6 и их потомстве (однодневные мышата).

Животные-производители (по 36 самок, 9 самцов каждой линии) были получены из лаборатории разведения экспериментальных животных Института цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск). Перед началом эксперимента взрослых животных содержали в пластмассовых клетках с подстилкой из мелких древесных опилок в стандартных условиях вивария, при естественном освещении, на гранулированном комбикорме «ПК 120-3» («Лабораторснаб», Россия) и воде ad libitum.

Все манипуляции с лабораторными животными проводили, соблюдая «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Страсбург, 1986), принципы гуманности, изложенные в директиве Европейского сообщества (86/609/EEC), «Принципы надлежащей лабораторной практики» (ГОСТ Р53434-2009 от 01.03.2010 идентичен GLPOECD).

2.2 Дизайн экспериментальных исследований

Для определения точного срока беременности виргинных самок мышей в фазе диэструса эстрального цикла подсаживали к самцам на ночь (в соотношении 4:1 в отдельных клетках). Утром следующего дня по наличию сперматозоидов во влагалищном мазке или влагалищных пробок и последующему установившемуся периоду межтечки, самок мышей отбирали и вели отсчет срока беременности.

Отобранные беременные самки обеих линий были разделены на 6 групп (по 12 особей). Самок 3-й и 4-й групп подвергали воздействию хронической гипобарической гипоксии, 5-й и 6-й групп – инфицировали *Candida albicans*. Контрольные животные (группы 1-я и 2-я) не подвергались каким-либо

воздействиям в течение всего срока беременности. За два дня до предполагаемых родов беременных самок помещали в индивидуальные клетки.

2.2.1 Моделирование хронической гипобарической гипоксии

Для моделирования хронической гипобарической гипоксии использовали герметичную барокамеру. Разрежение воздуха в камере проводили с помощью вакуумного электронасоса, контролируя величину разрежения по манометру, проградуированному в мм рт. ст. Беременных мышей-самок каждой линии помещали в барокамеру натощак и «поднимали» на высоту 9 000 метров над уровнем моря, что соответствовало давлению 224 мм рт. ст. и насыщению кислорода 42 мм рт. ст. [130]. Гипоксия при таком воздействии расценивается как тяжелая.

Выбранная модель является наиболее подходящей, т. к. в результате высотной гипобарической гипоксии происходит нарушение плацентарного кровотока у самок, что является основной причиной фетоплацентарной недостаточности у беременных женщин [142; 233].

Гипоксическое воздействие на беременных самок мышей обеих линий проводили с 13 по 19 день беременности. Выбор срока гипоксии был обусловлен тем фактом, что гипоксия плода, как правило, диагностируется во второй половине беременности [126], а переносимость беременными гипоксической гипоксии уменьшается по мере формирования системы «мать-плод» [53]. Гипоксическое воздействие осуществляли ежедневно в течение 7 дней; время воздействия, с учетом циркадных ритмов чувствительности грызунов к гипоксии, было с 9 до 13 часов ежедневно [138]. Продолжительность гипоксической экспозии составляла 4 часа: компрессия и декомпрессия составляли по одному часу, стационарная гипоксия – два часа. Скорость «подъема» и «спуска» регулировали с помощью механического клапана, лимитирующего поступление воздуха из атмосферы в емкость камеры. Средняя скорость составляла 8-10 мм рт. ст. / мин, что соответствует допустимым величинам скорости

изменения барометрического давления [59]. С целью поддержания постоянной влажности воздуха и поглощения углекислого газа в барокамеру помещали силикагель. Температура воздуха в барокамере составляла в среднем 18–22 °С и соответствовала температуре воздуха в лаборатории.

Потомство данных самок составило группу новорожденных животных, выношенных в условиях хронической внутриутробной гипоксии (ХВУГ).

2.2.2 Моделирование внутриутробного кандидозного инфицирования

Для моделирования внутриутробного кандидозного инфицирования мышам-самкам, после наркотизации (отсутствие болевых рефлексов у животного) этаминалом натрия (нембутал внутрибрюшинно в дозе 1,8 мг на 1 животного), на 13-й день беременности в область плаценты каждого плода, параллельно стенке маточной трубы, с помощью «туберкулинового» шприца водили 0,04 мл раствора с суточной культурой *Candida albicans* из расчета $2{,}5 \times 10^6$ клеток возбудителя кандидозной инфекции в 0,2 мл изотонического раствора натрия хлорида (т. е. $0{,}5 \times 10^6$ микробных тел на плаценту каждого плода). Для чего по средней линии брюшной стенки делали разрез и аккуратно выводили в область разреза одну из маточных труб с плодами. При удалении иглы место ее введения тампонировали стерильным ватным шариком. После этого маточную трубу через рану возвращали в брюшную полость. По завершении этой процедуры брюшную стенку ушивали послойно [95].

Внутриутробное кандидозное инфицирование определяли по окончании беременности (выкидыша или родов) по наличию возбудителя в тканях последа (плацента, околоплодные оболочки) и плода. Для этого проводили микробиологическое исследование тканей последа, печени плода путем посева на питательные среды на агаре Saboraud с глюкозой – установили наличие кандидозной инфекции в тканях последа у 100 % животных, в ткани печени плода – у 75 % животных, а также гистологическое исследование инфицированной

печени плода (рисунок 1) методом специальной окраски на грибы по Шабадашу [52].

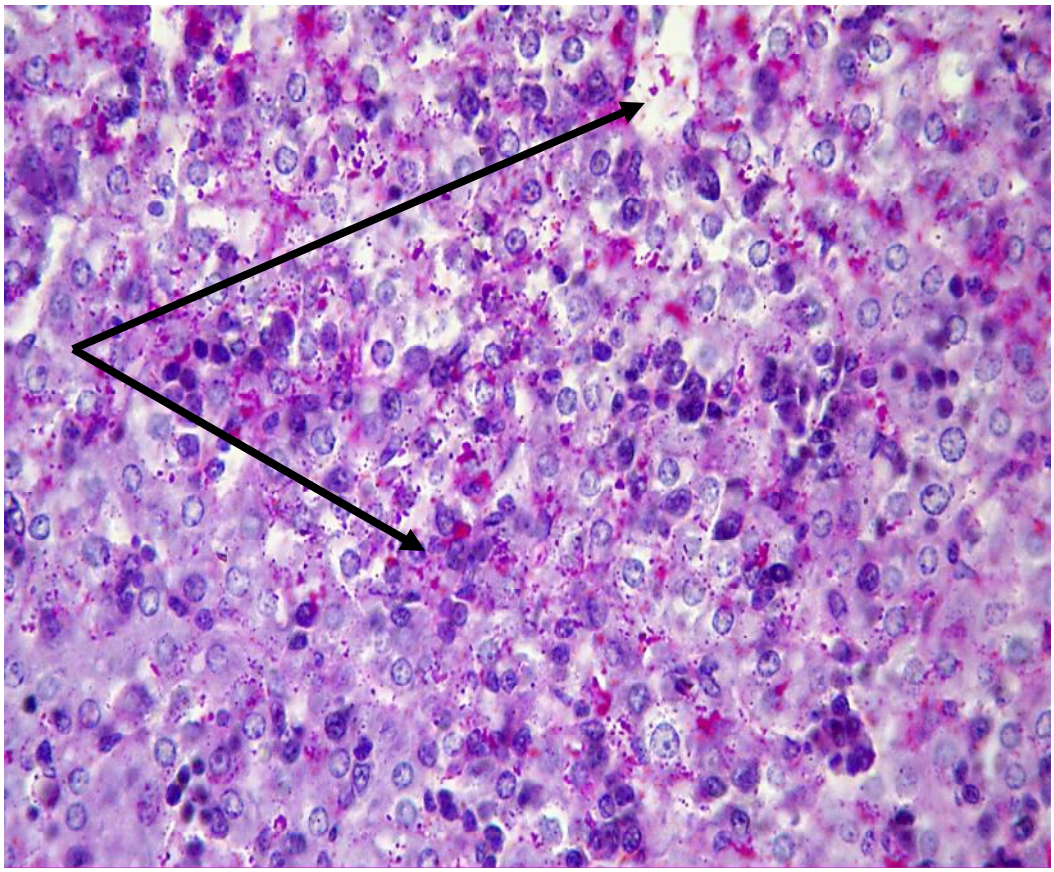


Рисунок 1 – Дрожжевые клетки (псевдомицелий) *C. albicans в п*ечени новорожденной мыши линии C57Bl/6, внутриутробно инфицированной *Candida albicans*. Окраска по Шабадашу, ув. ×200

Потомство данных самок составило группу новорожденных животных с врожденной (внутриутробно инфицированных *Candida albicans*) кандидозной инфекцией (ВКИ).

2.2.3 Структура экспериментальных групп

Однодневные мышата линий СВА и C57Bl/6 были поделены на 6 групп (таблица 1): 1-я и 2-я группы – мышата контрольных групп, выношенные в

физиологических условиях (20 особей), 3-я и 4-я – мышата, выношенные в условиях ХВУГ (20 особей), 5-я и 6-я – мышата с ВКИ (20 особей). Новорожденных мышей в течение первых суток после рождения выводили из эксперимента путем декапитации под эфирным наркозом.

Таблица 1 – Структура экспериментальных групп

№ группы	Наименование группы	Линии мышей	Количество животных	Методы оценки
1	Новорожденные мыши, выношенные в условиях физиологической нормы (контроль).	CBA	10	Электронная микроскопия (морфометрическое исследование ультраструктур клеток Купфера). Иммуногистохимия, световая микроскопия (оценка уровни экспрессии MMP-9 и TIMP-1клетками печени).
2		C57Bl/6	10	
3	Новорожденные мыши, выношенные в условиях хронической внутриутробной гипоксии (ХВУГ).	CBA	10	
4		C57Bl/6	10	
5	Новорожденные мыши, перенесшие внутриутробное кандидозное инфицирование (ВКИ).	CBA	10	
6		C57Bl/6	10	

2.3 Методы оценки и оборудование

Массу новорожденных мышей определяли на торсионных весах фирмы «Techniprot» с ценой деления 1 мг.

2.3.1 Световая микроскопия ткани печени

Подготовка материала к изучению методами световой микроскопии. Объектом для светооптического исследования была печень новорожденных

мышат, которую фиксировали в 10 % растворе нейтрального формалина (Biovitrum, Россия) в течение 4 суток. Забранные образцы подвергали стандартной обработке на гистологическом комплексе MICROM («Карл Цейс», Германия): обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации, обезжиривали в ксилоле, заключали в парафин. Гистологические срезы (по 3–4 среза) изготавливали на ротационном микротоме HM 335E, окрашивали гематоксилином Лилли – Майера и 10 % эозином (для обзорной микроскопии). Дополнительно для выявления аргирофильных волокон проводили импрегнацию серебром по Гордону – Свиту, дрожжевые клетки и мицелий *C. albicans* выявляли по Шабадашу [52]. Для иммуногистохимического исследования срезы помещали на предметные стекла, покрытые адгезивом.

Иммуногистохимический метод

Процедуру иммуногистохимического исследования, адаптированную для лаборатории, выполняли в соответствии с рекомендациями, изложенными в руководстве по иммуногистохимическим исследованиям [172] и фирм-производителей антител.

Перед проведением иммуногистохимического исследования приготовленные срезы ткани печени депарафинировали и проводили демаскировку антигенов тканей в PT Link модуле («Dako», Дания) при температуре 97 °С в течение 20 мин в цитратном буфере (pH 9,0). Полученные срезы инкубировали с соответствующими антителами согласно указаниям фирм-производителей (таблица 2). Иммуногистохимические реакции проводили в автоматизированном режиме в иммуногистостейнере AutosteinerLink 48 («Dako», Дания).

Визуализацию иммуногистохимических реакций проводили с помощью пероксидазо-полимерной системы детекции EnVision^{TM}FLEXsystems («Dako», Дания) по стандартному протоколу. На заключительном этапе реакции срезы докрашивали гематоксилином Майера. Негативным контролем служили препараты без инкубации с первичными антителами при полном соблюдении остальных этапов протокола.

Таблица 2 – Характеристики антител, применявшихся в экспериментахи режимы для их использования

Наименование антител	Разведение	Время экспозиции	Фирма-производитель
Поликлональных антител Rba-HuMMP-9	1:200	20 минут	«Thermo Fisher Scientifi c Inc.», США
Mouse a-Human TIMP-1 monoclonal antibody, clone 102D1	1 100	20 минут	«Thermo Fisher Scientifi c Inc.», США

О специфическом связывании антител с исследуемыми антигенами MMP-9 и TIMP-1 свидетельствовало дисперсное окрашивание цитоплазмы клеток темнокоричневого цвета (рисунок 2).

Полученные срезы исследовали в световой микроскоп Axioscopstarplus («Zeiss», Германия), изображения были получены при помощи цифровой видеокамеры AxiocamICc 3 («Zeiss», Германия).

Для оценки экспрессии MMP-9 и TIMP-1 клетками печени в каждом наблюдении определяли процент положительно окрашенных клеток (синусоидальных, очагов кроветворения) в 10 полях зрения с подсчетом среднего значения. Необходимые параметры (количество окрашенных клеток в поле зрения) считали при увеличении микроскопа в 1 000 раз.

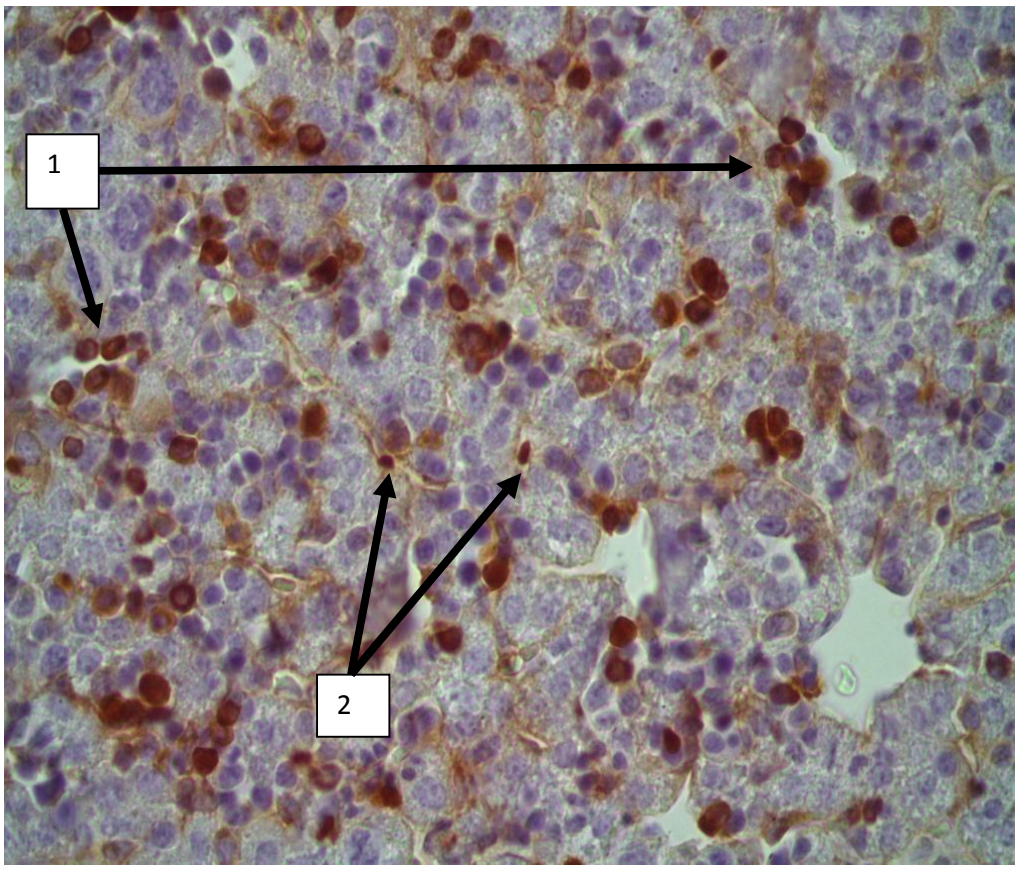


Рисунок 2 – Экспрессия ММР-9 в клетках печени новорожденной мыши линии СВА, подвергнутой ХВУГ: окрашенный продукт визуализируется гомогенно в клетках очагов экстрамедуллярного кроветворения (1), синусоидальных клетках (2). Докраска гематоксилином, ув. × 400

2.3.2 Электронная микроскопия клетки Купфера

Подготовка материала к изучению методами электронной микроскопии. Для электронномикроскопического исследования образцы печени объемом 1 мм^3 в количестве 7–8 от одного животного, фиксировали в 1 % водном растворе тетраоксида осмия (OsO_4) при температуре 4 °С, обезвоживали в серии спиртов возрастающей концентрации, заключали в эпоксидные смолы с использованием компонентов из набора SPI-PON 812 KIT (фирма «SIGMA chemical company», Швеция). Полученные с готовых блоков эпоксидные срезы толщиной 1 мкм окрашивали (при нагревании) 1 % раствором метиленового

голубого в 1 % растворе тетрабората натрия. Изучали под световым микроскопом и выбирали необходимые участки для исследования под электронным микроскопом. Из отобранного материала получали ультратонкие срезы толщиной 35–45 нм, изготовленные на ультрамикротоме (LKB-Nova, Швеция) последовательно контрастировали в насыщенных водных растворах ацетата уранила и цитрата свинца по E.S. Reynolds [249].

Электронномикроскопическое исследование КК проводили с помощью трансмиссионного электронного микроскопа JEM-100/ASID/SEGZ (Япония) [81].

2.3.3 Морфометрическое исследование

Морфометрическое исследование проводили, используя основные принципы стереологиии и морфометрии [2].

Для морфометрического исследования клеток Купфера образцы фотографировали (20–40 снимков случайно выбранных участков цитоплазмы) при увеличении в 3 500, 5 600 раз.

Морфометрию ультраструктур КК проводили по негативным изображениям их срезов, спроецированных на многоцелевую квадратную открытую тестовую систему при конечном увеличении 56000 раз. Параметры тестовой системы для морфометрии ультраструктур КК (таблица 3): шаг 3 см, 88 точек, с учетом конечного увеличения длина тестовой линии (Lt) 47,135 мкм, тестовая площадь (At) 25,22 мкм^2. Прикрепленные рибосомы подсчитывали в малых квадратах (1 см^2), At = 0,03 мкм^2. Выбор тестовых систем для использования в работе обусловлен задачами исследования, в соответствии с рекомендациями Weibel E.R. [279].

На электроннограммах клеток Купфера подсчитывали объемную плотность (V_v) митохондрий, гранулярной эндоплазматической сети (рисунок 3), первичных и вторичных лизосом (рисунок 4); поверхностную плотность (Sv) мембран митохондрий, гранулярной эндоплазматической сети (ГЭПС), для оценки плотности внутренних мембран митохондрий и ГЭПС рассчитывали соотношение

показателей Sv/Vv митохондрий и ГЭПС; численную плотность (Na_i) первичных и вторичных лизосом, митохондрий (с пересчетом на тестовую площадь At = 25,22 мкм^2 [143; 145].

Таблица 3 – Стереологические параметры, символы, сокращения, использованные в работе

Символы	Параметры	Размерность
Vv	Объемная плотность структур	мкм^3/мкм^3, %
Sv	Поверхностная плотность структур в объеме	мкм^2/мкм^3
Na_i	Численная плотность – число структур в тестовой площади	мкм^0
At	Тестовая площадь	мкм^2
Lt	Длина тестовой линии	мкм
Pt	Общее число точек тестовой системы	мкм^{0,}
Примечание: Обозначения и размерность параметров приведены согласно рекомендациям Международного стереологического общества [279].		

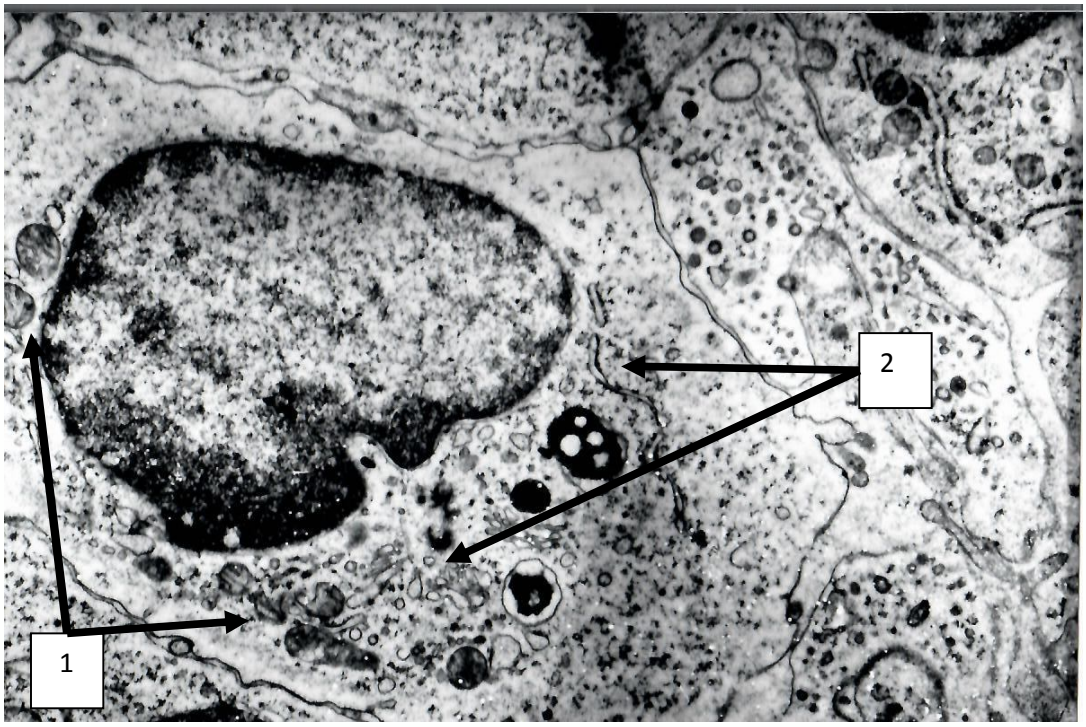


Рисунок 3 – Митохондрии (1) и эндоплазматическая сеть (2) в клетке Купфера в печени новорожденной мыши линии C57Bl/6. Электронограмма, × 5600

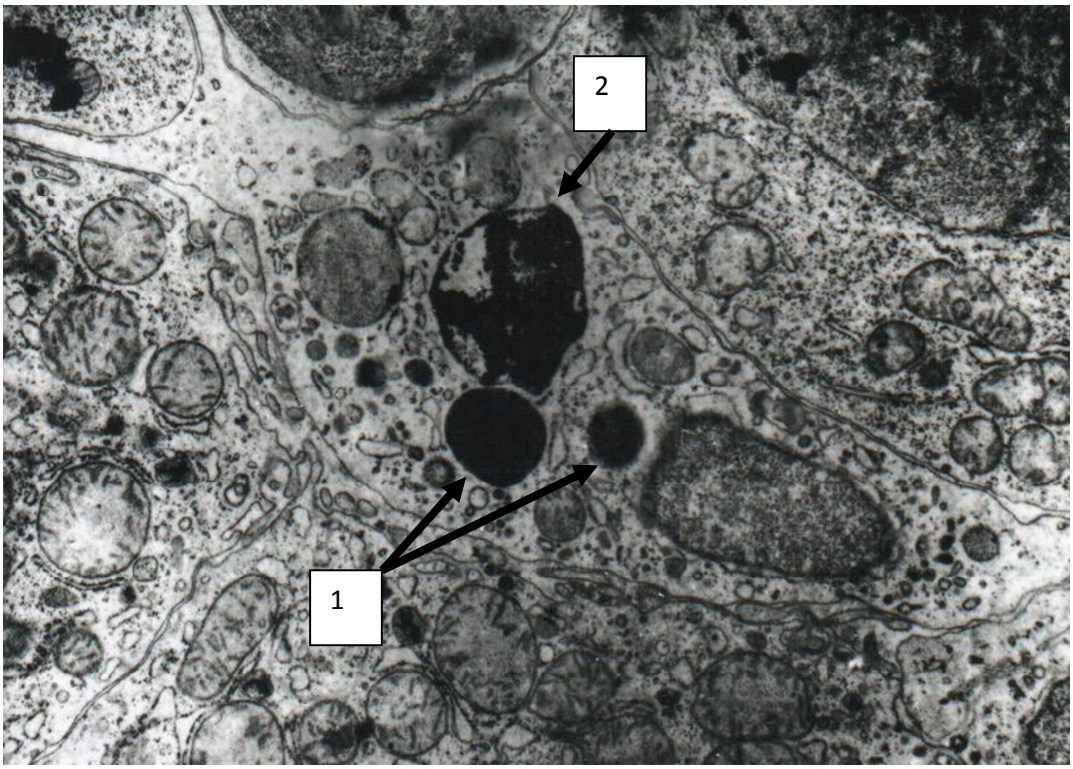


Рисунок 4 – Первичные (1) и вторичные (2) лизосомы клетки Купфера в печени контрольной новорожденноймыши линии СВА. Электронограмма, × 5600

В процессе морфометрических исследований величины определяемых параметров рассчитывали по приведенным ниже формулам.

Определение объемной плотности структур проводили методом подсчета числа попаданий точек (пересечений тестовых линий) тестовой решетки на профили исследуемых структур в гистологическом срезе. Объемную плотность исследуемых структур вычисляли по формуле (1):

$$Vv_i = P_i / P_t, \quad (1)$$

где P_i– количество точек тестовой системы, попавших на профиль исследуемой структуры;

P_t – обшее количество точек тестовой системы, попавших на профиль среза всего исследуемого объекта [2].

Определение поверхностной плотности структур в объеме. Вычисление поверхностной плотности имеет большое значение для всех клеточных

компартментов, поскольку позволяет судить не только о линейных изменениях структур, но также делать косвенные предположения об изменениях их формы в тех или иных условиях функционирования.

Поверхность какой-либо структуры на срезе представлена линией, ограничиваюшей ее профиль. Суммарная длина этих линий в единице площади среза пропорциональна поверхностной плотности (Sv_i) структуры. Если тестовую линию определенной длины (L_t) случайным образом разместить над срезом ткани или клетки, то она несколько раз пересечет контуры структур. Число пересечений (C_i) тестовой линии с контурами структур пропорционально их поверхностной плотности и длине тестовой линии.

Для вычисления поверхностной плотности использована формула (2):

$$Sv_i = 2C_i / L_t, \quad (2)$$

где C_i – число пересечений тестовой линии с границами структуры;

L_t – обшая длина тестовой линии с учетом увеличения объекта [2].

На основании первичных стереологических параметров рассчитывали вторичные – поверхностно-объемное отношение структур (Sv_i/Vv_i) [106].

2.3.4 Методы статистической обработки результатов

Статистическую обработку данных морфометрического исследования проводили с использованием лицензированного пакета программ прикладной статистики «Microsoft Excel 2010» с определением средней величины (M), стандартной ошибки среднего (m). Характеристики выборок приведены как ($M \pm m$). Достоверность статистически значимых различий средних величин в сравниваемых группах рассчитывали по t-критерию Стьюдента для независимых выборок. Различия между сравниваемыми показателями считали достоверными при $p < 0,05$. При расчетах учитывали нормальность распределения исследуемого количественного признака (медиана близка к среднему значению (расхождение не более 20 %).

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Ультраструктурная организация клетки Купфера и характер экспрессии MMP-9 и TIMP-1 непаренхиматозными клетками печени у новорожденных мышей линий CBA и C57BL/6 в условиях нормы

Масса тела контрольных новорожденных (1-е сутки) мышей линий CBA и C57B1/6, была различной: масса тела мышей линии CBA была меньше, чем у мышей линии C57B1/6, на 16,98 % (таблица 4), что можно объяснить большей многоплодностью данной линии.

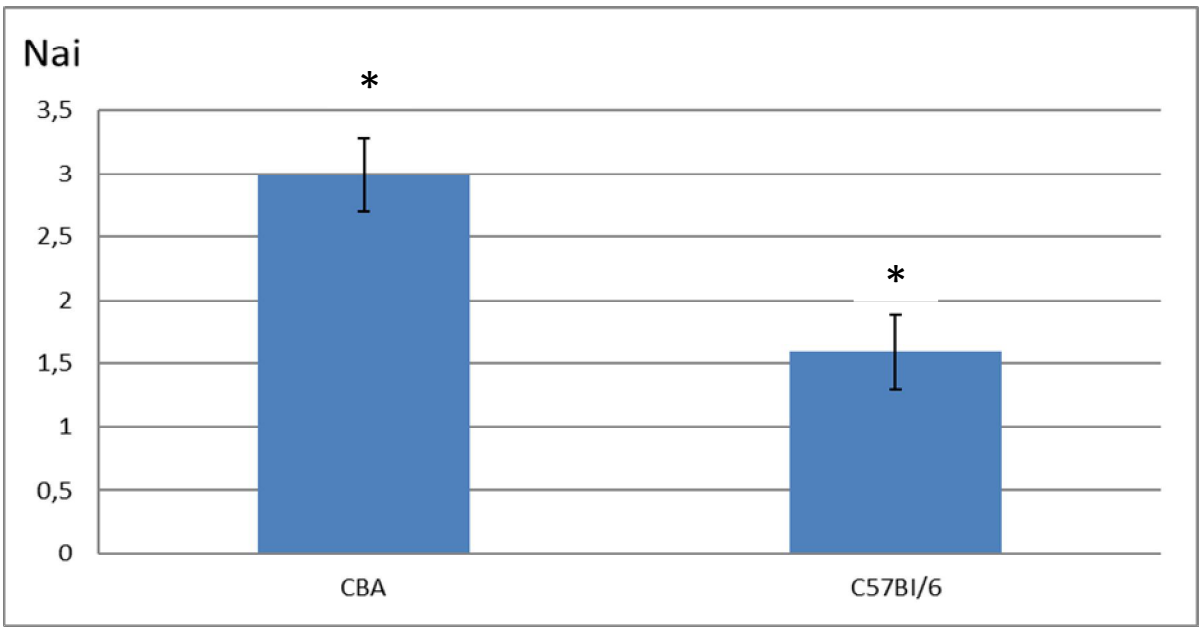
Таблица 4 – Масса тела контрольных новорожденных мышей линий CBA и C57B1/6 (M ± m)

Линии мышей	Масса тела (г)
CBA	(1,32 ± 0,06)*
C57B1/6	(1,59 ± 0,03)*
Примечание: * – достоверные межлинейные различия средних величин соответствующих параметров ($p < 0,05$).	

3.1.1 Ультраструктура клетки Купфера у новорожденных мышей линий CBA и C57Bl/6 в условиях нормы

При электронномикроскопическом исследовании ультраструктуры КК в печени новорожденных мышей, сравниваемых линий, выявили различия по ряду показателей: численной, объемной плотностей митохондрий, развитости крист митохондрий**,** ГЭПС.

Показатель численной плотности (N_{ai}) митохондрий КК был большим у новорожденных мышей линии CBA в 1,9 раза, в сравнении с таковым у новорожденных мышей линии C57B1/6 (рисунок 5; см. приложение А таблица А.1).



Примечание: * – достоверные межлинейные различия средних величин соответствующих параметров ($p < 0,05$).

Рисунок 5 – Численная плотность (Na_i) митохондрий в КК у контрольных новорожденных мышей линий C57Bl/6 и CBA

Величины объемной (Vv) и поверхностной (Sv) плотностей митохондрий не имели различий у мышей разных линии в условиях нормы (рисунок 6 и 7). При этом соотношение показателей Sv/Vv митохондрий было большим у новорожденных мышей линии C57B1/6, в 1,69 раза (рисунок 8; см. приложение А таблица А.1).

Величины объемной (Vv) и поверхностной (Sv) плотностей ГЭПС были большими у мышей линии C57Bl/6, в сравнении с аналогичными показателями у мышей линии CBA, в 1,22 и 1,91 раза, соответственно (рисунок 9 и 10), а соотношение величин Sv/Vv ГЭПС – в 1,55 раза (рисунок 11; см. приложение А таблица А.1).

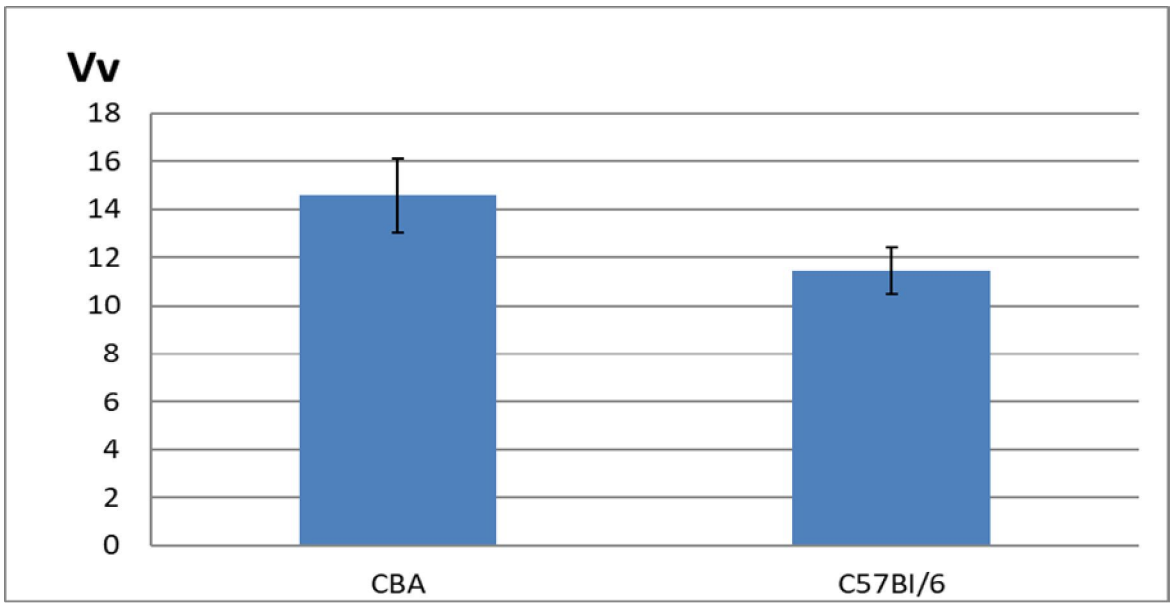


Рисунок 6 – Объемная плотность (Vv, %) митохондрий в КК у контрольных новорожденных мышей линий C57Bl/6 и CBA

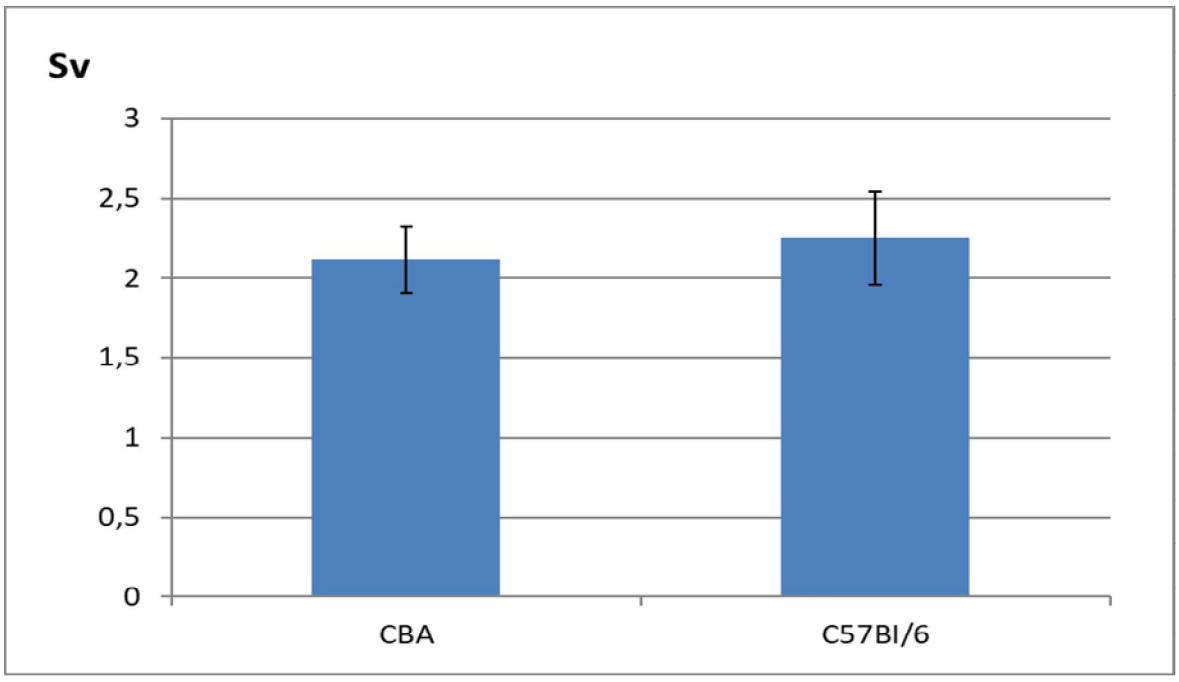
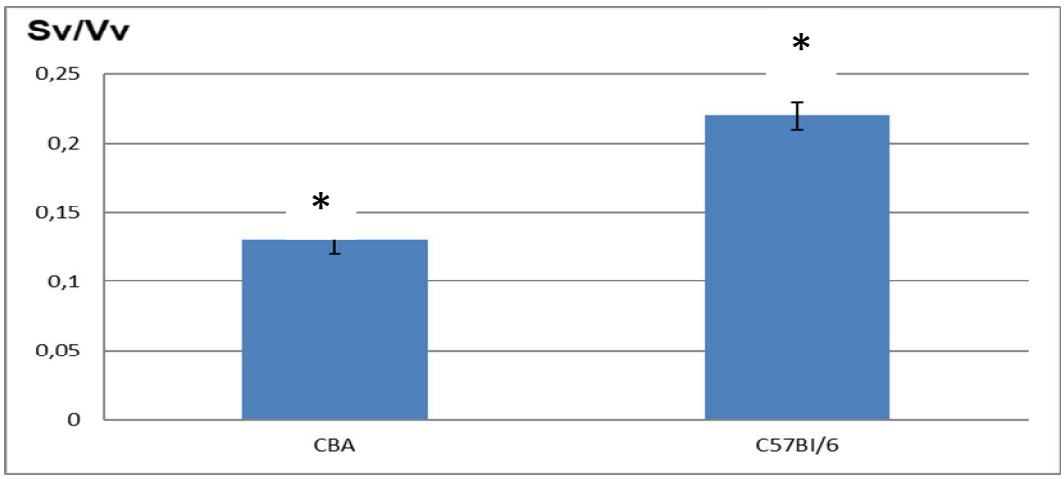
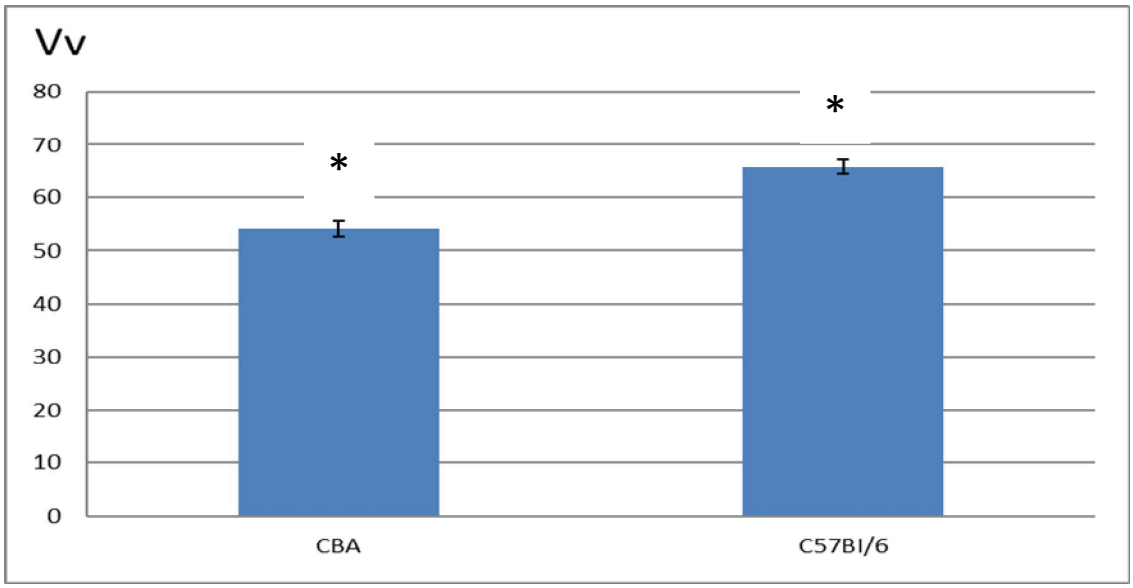


Рисунок 7 – Поверхностная плотность (Sv, мкм^2/мкм^3) митохондрий в КК у контрольных новорожденных мышей линий C57Bl/6 и CBA



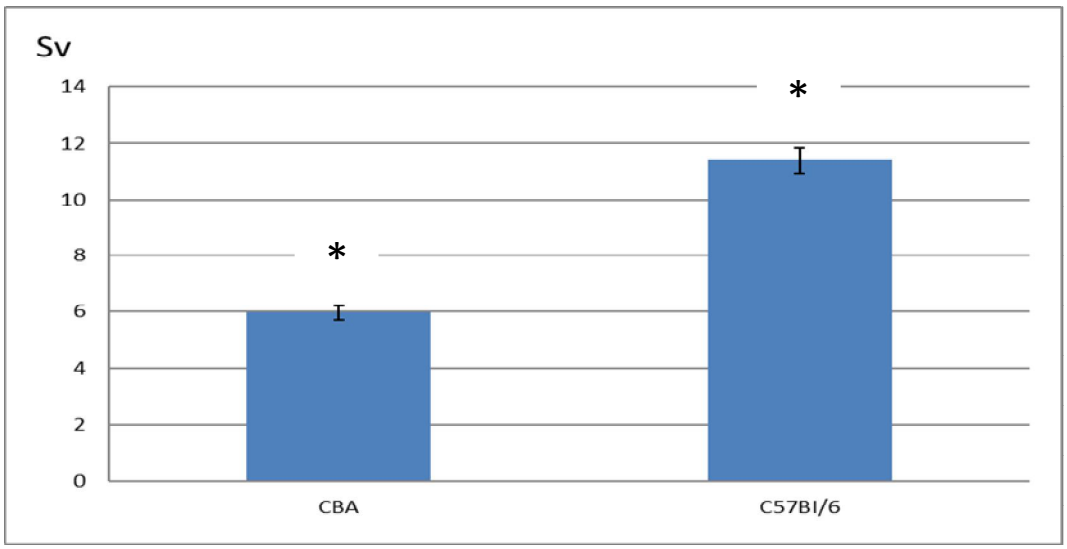
Примечание: * – достоверные межлинейные различия средних величин соответствующих параметров ($p < 0,05$).

Рисунок 8 – Соотношение показателей величин поверхностной (Sv) и объемной (Vv) плотностей митохондрий в КК у контрольных новорожденных мышей линий C57Bl/6 и CBA



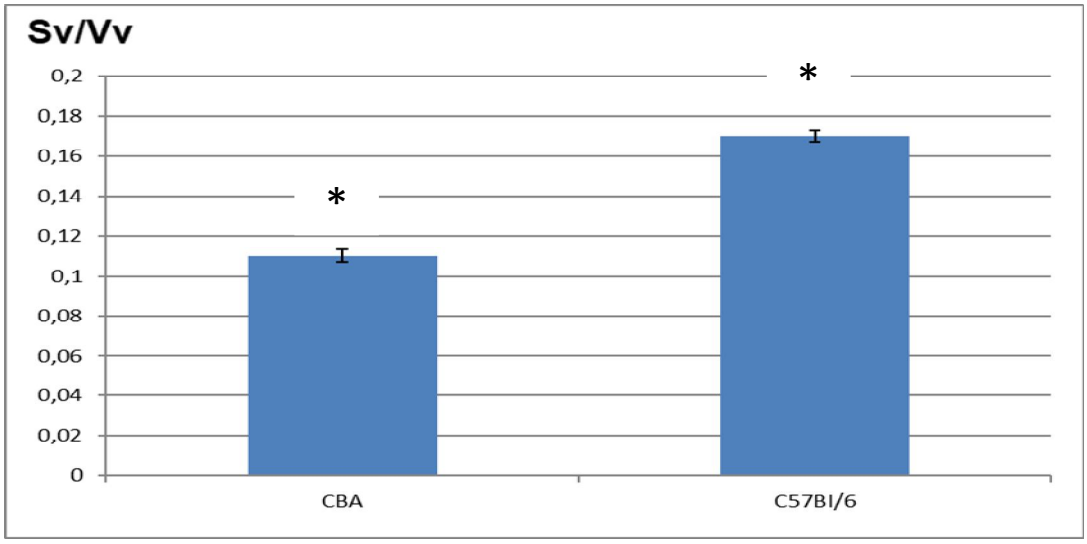
Примечание: * – достоверные межлинейные различия средних величин соответствующих параметров ($p < 0,05$).

Рисунок 9 – Объемная плотность (Vv, %) ГЭПС в КК у контрольных новорожденных мышей линий C57Bl/6 и CBA



Примечание: * – достоверные межлинейные различия средних величин соответствующих параметров ($p < 0,05$).

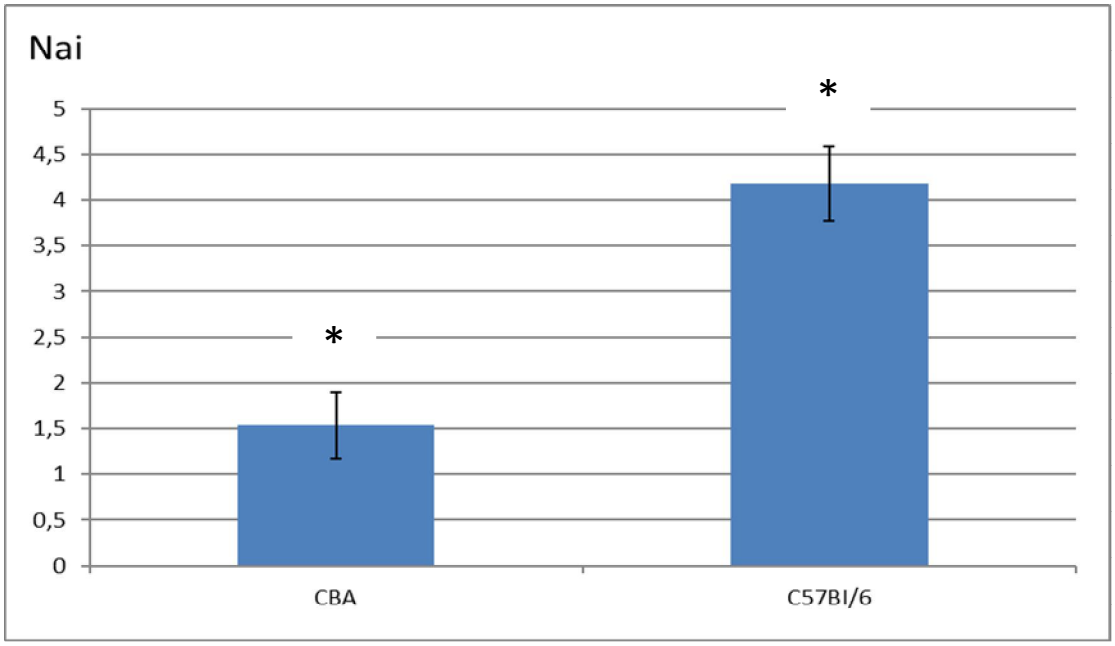
Рисунок 10 – Поверхностная плотность (Sv, мкм^2/мкм^3) ГЭПС в КК у контрольных новорожденных мышей линий C57Bl/6 и CBA



Примечание: * – достоверные межлинейные различия средних величин соответствующих параметров ($p < 0,05$).

Рисунок 11– Соотношение показателей величин поверхностной (Sv) и объемной (Vv) плотностей ГЭПС в КК у контрольных новорожденных мышей линий C57Bl/6 и CBA

Величина численной плотности (Na_i) прикрепленных рибосом в тестовой площади у новорожденных мышей линии C57Bl/6 превышала в 2,71 раза величину аналогичного показателя у новорожденных мышей линии CBA (рисунок 12; см. приложение А таблица А.1).



Примечание: * – достоверные межлинейные различия средних величин соответствующих параметров ($p < 0,05$).

Рисунок 12 – Численная плотность (Na_i) прикрепленных рибосом ГЭПС в КК у контрольных новорожденных мышей линий C57Bl/6 и CBA

Межлинейных различий по параметрам исследования вакуолярного аппарата в сравниваемых группах мышей, выношенных в физиологических условиях, выявлено не было (таблица 5).

Таблица 5 – Результаты морфометрического исследования вакуолярного аппарата КК у новорожденных мышей линий С57Bl/6 и СВА в условиях нормы (M ± m)

Параметры исследования	Линии мышей	
	СВА	С57BL/6
Первичные лизосомы (Na_i)	0,26 ± 0,10	0,40 ± 0,17
Первичные лизосомы (Vv, %)	1,73 ± 0,36	2,45 ± 0,45
Вторичные лизосомы / фаголизосомы (Na_i)	4,28 ± 0,76	5,50 ± 0,96
Вторичны лизосомы/ фаголизосомы (Vv, %)	15,27 ± 2,26	12,98 ± 1,64

3.1.2 Экспрессия MMP-9 и TIMP-1 непаренхиматозными клетками печени у новорожденных мышей линий СВА и С57Bl/6 в условиях нормы

При гистологическом исследовании печени контрольных новорожденных мышей линий СВА и С57Bl/6 наблюдали многочисленные очаги экстрамедуллярного кроветворения, гепатоциты располагались рыхло, внутри долек печёночные балки не были сформированы (рисунок 13), аргирофильные волокна были слабо выражены.

Цитоплазматической экспрессии MMP-9 и TIMP-1 как паренхиматозными, так и непаренхиматозными (очагов экстрамедуллярного кроветворения, синусоидальными) клетками печени у новорожденных мышей обеих линий, СВА и С57Bl/6, выношенных в физиологических условиях выявлено не было (рисунок 14).

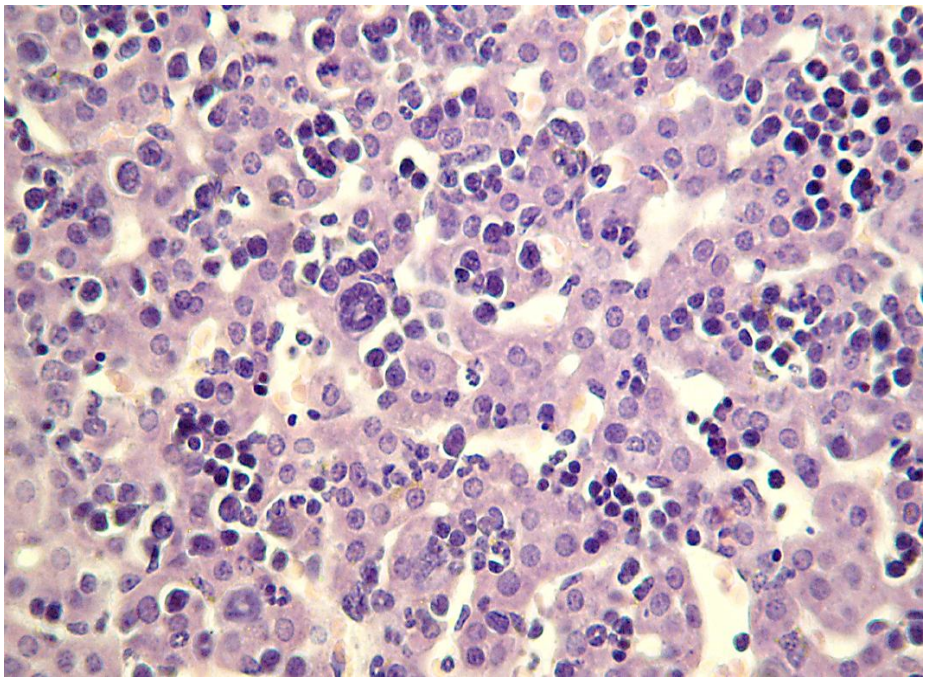


Рисунок 13 – Печень контрольной новорожденной мыши линии C57B1/6: очаги экстрамедуллярного кроветворения, мегакариоциты, двуядерные гепатоциты. Окраска: гематоксилином и эозином, ув. × 400

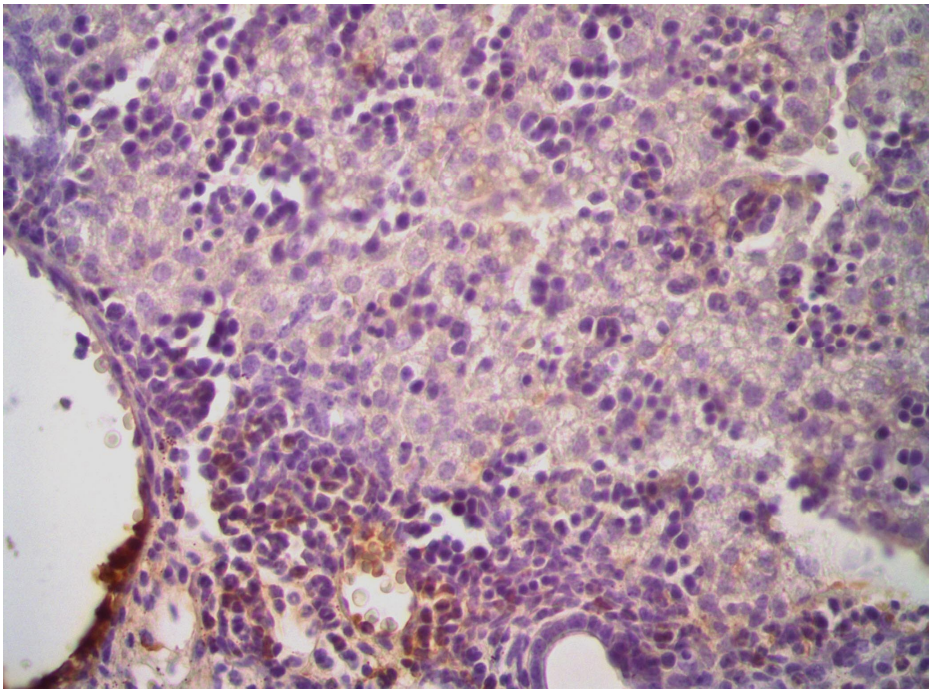


Рисунок 14 – Отсутствие экспрессии ММР-9 гепатоцитами у контрольной новорожденной мыши линии C57B1/6. Докраска гематоксилином, ув. × 200

Таким образом, в результате проведенного сравнительного морфологического и морфометрического исследований ультраструктур КК, были выявлены различия по ряду изучаемых параметров у новорожденных мышей линий СВА и С57В1/6, выношенных в физиологических условиях.

Величины объёмной (Vv) и поверхностной (Sv) плотностей митохондрий КК значимо не различались у мышей обеих линий. В то же время, наблюдаемое увеличение соотношения величин показателей Sv / Vv митохондрий – плотности внутренних мембран митохондрий КК у мышей линии С57В1/6, согласно литературным данным, может указывать на исходно высокие энергообменные процессы в КК у контрольных новорожденных мышей этой линии [282].

Функция мембран, формирующих эндоплазматическую сеть, различна в зависимости от их связи с рибосомами: гранулярная эндоплазматическая сеть – это место белкового синтеза, составляющего основу клеточной секреции белка, тогда как «гладкая» эндоплазматическая сеть играет роль в синтезе углеводов, метаболизме стероидов и различных токсических субстанций, которые необходимо нейтрализовать. Она также имеет отношение к метаболизму гликогена [282].

Более развитая сеть мембран, формирующих ГЭПС, высокие показатели численной плотности (Na_i) прикрепленных к ним рибосом в КК у новорожденных мышей линии С57В1/6, в условиях нормы, по сравнению с мышами линии СВА, могут являться отражением состояния исходно высокой белоксинтетической активности КК [282].

По-видимому, разными энергообменными процессами и белоксинтетической активностью КК можно объяснить полученные ранее результаты Надеева А. П. с соавторами [86], касающиеся структурной организации паренхимы печени новорожденных мышей линий СВА и С57Bl/6, в условиях нормы. Авторы показали, что новорожденные мыши линии С57Bl/6 имели более высокие уровни как физиологической регенерации (увеличение численной плотности гепатоцитов в состоянии митоза), так и большие темпы

физиологической смены популяции гепатоцитов (увеличение численной плотности моноцеллюлярных некрозов) по сравнению с мышами линии СВА [86].

Согласно данным Элбакидзе Г. М. и Меденцева А. Г. [149] активированные КК выполняют функцию «модулирования резистентности гепатоцитов, оказывая на последние как повреждающее, так и протективное действие» [149; 245]. В этой связи можно допустить, что более «активные» КК у новорожденных мышей линии С57Bl/6 в условиях физиологической нормы способствовали гибели поврежденных гепатоцитов и стимулировали пролиферацию неповрежденных.

Полноценность функциональной адаптации организма в значительной степени определяется исходным состоянием организма в начале постнатального развития. В связи с этим, выявленные различия морфометрических параметров ультроструктуры КК у контрольных новорожденных мышей оппозитных линий СВА и С57Bl/6 могут послужить отправной точкой для изучения влияния внутриутробной патологии разного генеза на проявления морфофункциональной адаптации КК, печени и организма в целом в его последующем развитии.

3.2 Ультраструктурная организация клетки Купфера и характер экспрессии MMP-9 и TIMP-1 непаренхиматозными клетками печени у новорожденных мышей линий СВА и С57BL/6, подвергнутых хронической внутриутробной гипоксии

Воздействие хронической антенатальной гипоксии привело к снижению массы тела новорожденных животных по отношению к группе контроля: уменьшение массы тела новорожденных мышей после перенесенной антенатальной гипоксии составило для мышей линии СВА 27,27 %, для мышей линии С57Bl/6 – 34,59 % (таблица 6).

Межлинейных различий по данному показателю у животных, подвергнутых внутриутробной гипоксии, не наблюдали (таблица 6).

Таблица 6 – Масса тела (г) новорожденных мышей линий СВА и С57BL/6, подвергнутых хронической внутриутробной гипоксии (M ± m)

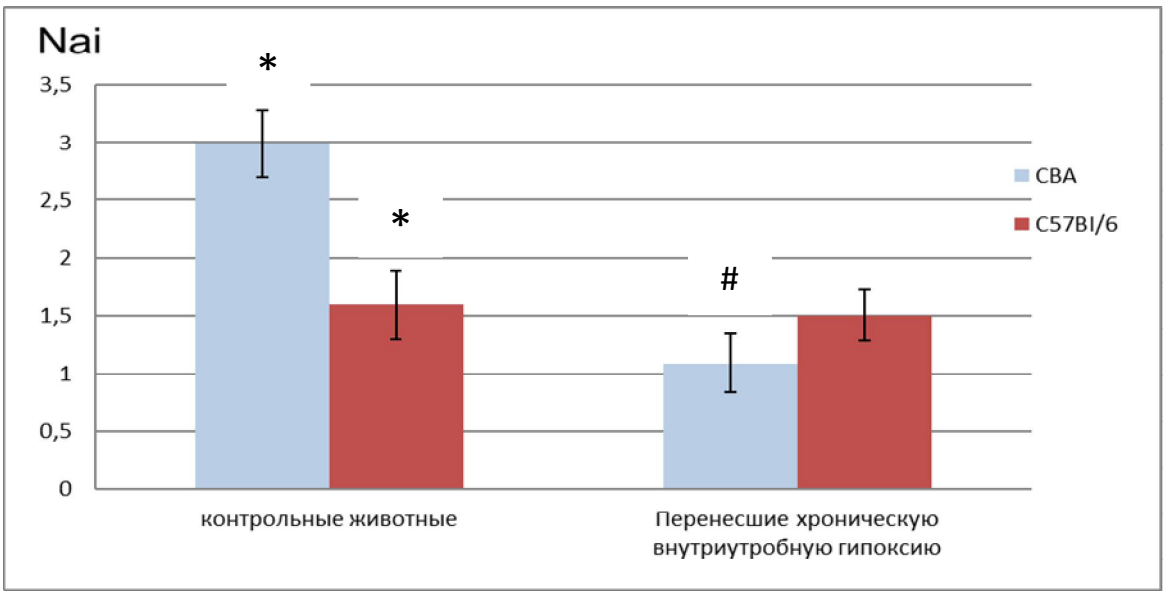
Линии мышей	Группы мышей	
	контрольные	после хронической внутриутробной гипоксии
СВА	1,32 ± 0,06*	0,96 ± 0,02[a]
С57Bl/6	1,59 ± 0,03*	1,04 ± 0,06[a]
Примечание: * – достоверные межлинейные различия средних величин соответствующих параметров ($p < 0,05$). а – достоверные различия между средними величинами, соответствующих параметров, у мышей в опытной группе и в группе контроля ($p < 0,05$).		

Антенатальная гипоксия оказывает негативное влияние и на гравиметрические показатели жизненно важных органов новорожденных животных (крыс): сердца, почек, легких, кишечника [83], мозга [120], печени [15; 99].

3.2.1 Ультраструктура клетки Купфера у новорожденных мышей линий СВА и С57Bl/6, подвергнутых хронической внутриутробной гипоксии

При морфометрическом исследовании ультраструктур КК в печени новорожденных мышей, сравниваемых линий, подвергнутых ХВУГ, выявили различия по ряду показателей.

У мышей линии СВА, подвергнутых ХВУГ, численная плотность (Na_i) митохондрий в КК уменьшилась в 2,74 раза, в сравнении с аналогичным показателем у мышей контрольной группы, а у мышей линии С57В1/6, так же подвергнутых ХВУГ, данный показатель не отличался от такового у мышей контрольной группы (рисунок 15). Величины объемной (Vv) и поверхностной (Sv) плотностей митохондрий в КК не имели различий у мышей разных линии, перенесших ХВУГ, не отличались они и от контрольных значений (рисунок. 16 и 17; см. приложение Б таблица Б.1).



Примечание: * – достоверные межлинейные различия средних величин соответствующих параметров ($p < 0,05$). # – достоверные различия между средними величинами, соответствующих параметров, у мышей в опытной группе и в группе контроля ($p < 0,05$).

Рисунок 15– Численная плотность (Na_i) митохондрий КК у новорожденных мышей линий С57Bl/6 и СВА, подвергнутых ХВУГ

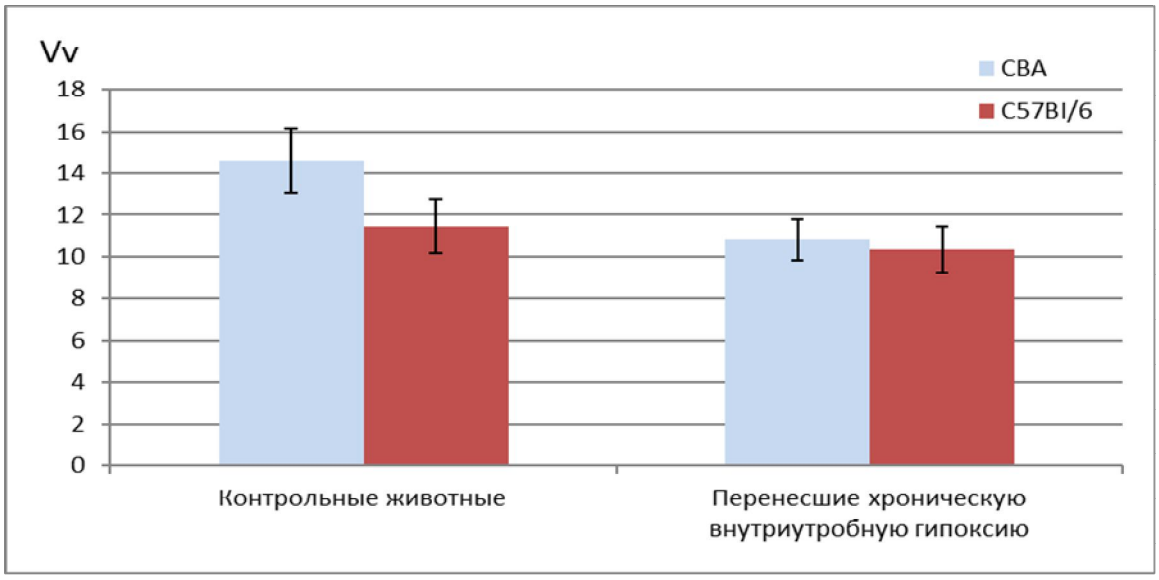


Рисунок 16 – Объемная (Vv, %) плотность митохондрий в КК у новорожденных мышей линий С57Bl/6 и СВА, подвергнутых ХВУГ

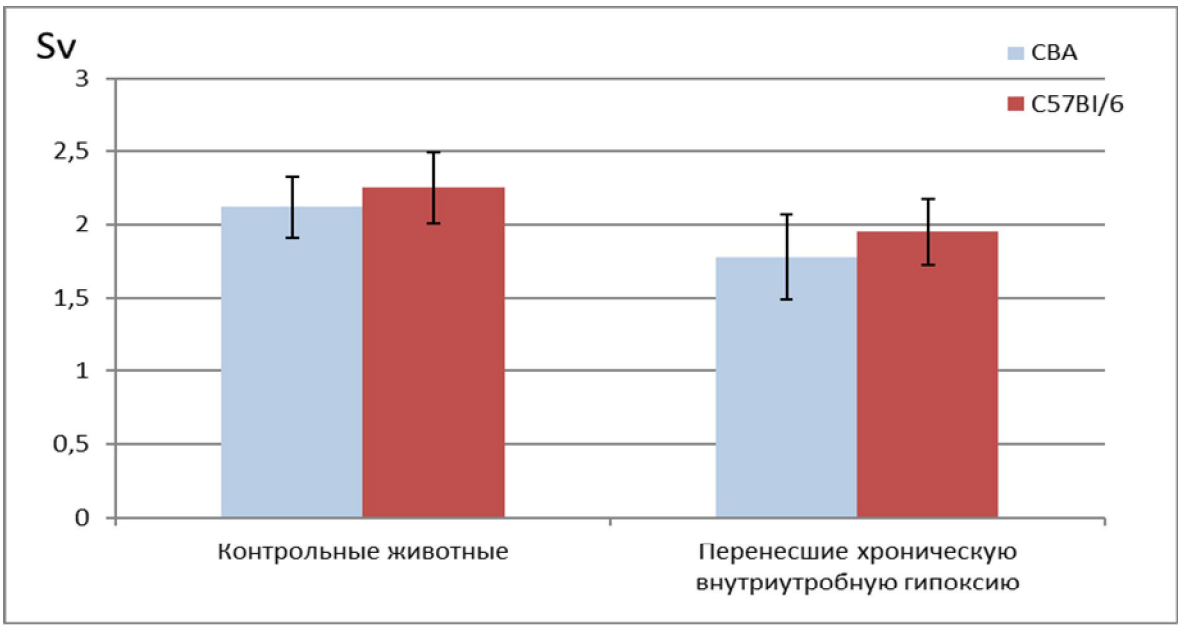
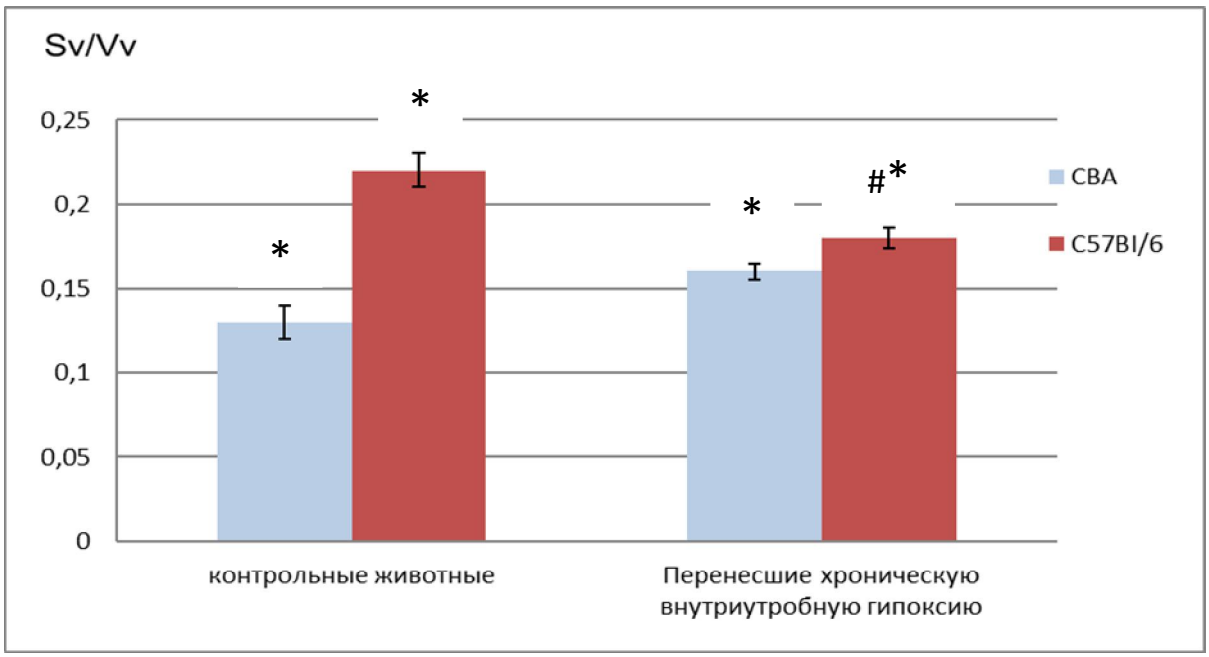


Рисунок 17 – Поверхностная (Sv, мкм^2/мкм^3) плотность митохондрий в КК у новорожденных мышей линий C57Bl/6 и CBA, подвергнутых ХВУГ

Величины соотношений Sv/Vv митохондрий в КК имели разнонаправленный характер у новорожденных мышей разных линий. У мышей линии CBA, подвергнутых ХВУГ, соотношение Sv/Vv увеличилось в 1,23 раза, в сравнении с аналогичным показателем контрольной группы, у мышей линии C57B1/6, подвергнутых ХВУГ, данный показатель уменьшился в 1,22 раза по сравнению с контрольным значением, но при этом в сравнении с мышами линии CBA, подвергнутых ХВУГ, оставался большим в 1,13 раза (рисунок 18; см. приложение Б таблица Б.1).



Примечание: * – достоверные межлинейные различия средних величин соответствующих параметров ($p < 0,05$). # – достоверные различия между средними величинами, соответствующих параметров, у мышей в опытной группе и в группе контроля ($p < 0,05$).

Рисунок 18 – Соотношение показателей величин поверхностной (Sv) и объемной (Vv) плотностей митохондрий в КК у новорожденных мышей линий С57Bl/6 и СВА, подвергнутых ХВУГ

У новорожденных мышей линии С57В1/6, подвергнутых ХВУГ, выявили снижение значений морфологических показателей, характеризующих белково-синтетический аппарат КК, в сравнении с мышами контрольной группы этой линии (С57В1/6): уменьшение величин объемной (Vv), поверхностной (Sv) плотностей ГЭПС и соотношения величин Sv/Vv ГЭПС в сравнении с аналогичными показателями у мышей контрольной группы составило – в 1,26, 1,82 и 1,55 раза, соответственно (рисунки 19, 20 и 21; см. приложение Б таблица Б.1). У мышей линии СВА данные показатели значимо не изменялись (см. рисунки 19, 20, 21; см. приложение Б таблица Б.1).

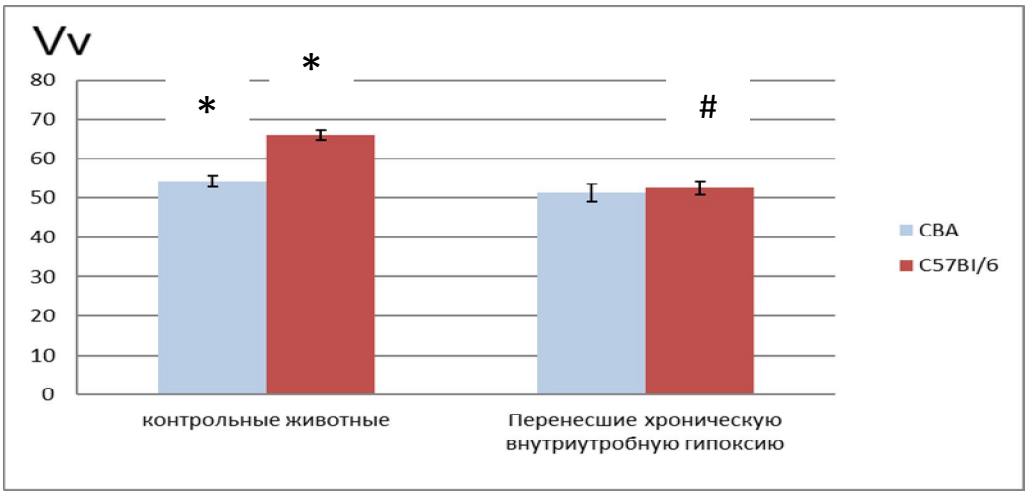
Величина численной плотности (Na_i), прикрепленных рибосом в тестовой площади у мышей линии С57В1/6, подвергнутых ХВУГ, уменьшилась в 2,3 раза,

в сравнении с аналогичным показателем у контрольных мышей. У мышей линии СВА, подвергнутых ХВУГ, данные показатели не отличались от таковых в контрольной группе (рисунок 22; см. приложение Б таблица Б.1).

Исследуемые морфологические показатели (Vv, Sv митохондрий и гранулярной ЭПС, Na_i прикрепленных рибосом ГЭПС и митохондрий) не имели различий у новорожденных мышей разных линии, подвергнутых ХВУГ (рисунки 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22; см. приложение Б таблица Б.1).

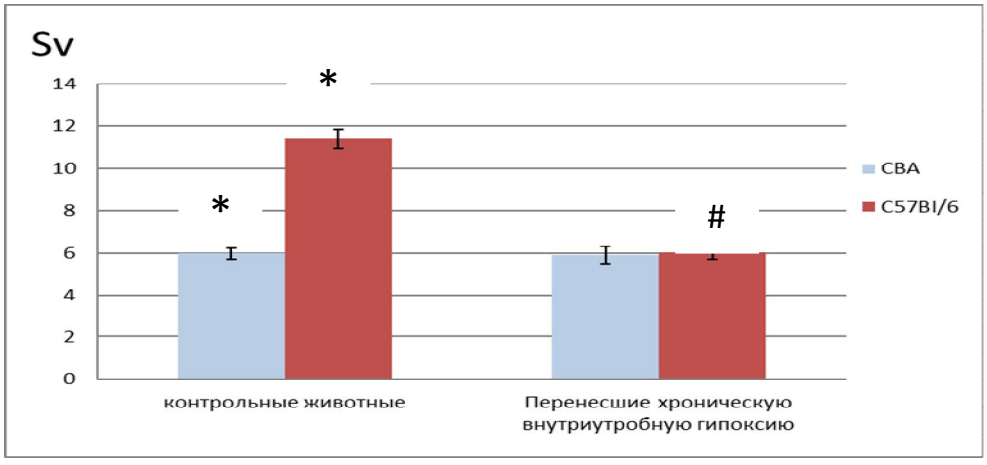
Наблюдали отличия по ряду величин, характеризующих вакуолярный аппарат КК у новорожденных мышей разных линии, подвергнутых ХВУГ, от соответствующих показателей у мышей контрольных групп.

У мышей линии С57В1/6, подвергнутых ХВУГ, уменьшилась численная плотность (Na_i) первичных лизосом в 8 раз по сравнению с таковой у мышей этой линии, контрольной группы (рисунок 23). При этом величина объемной плотности (Vv) первичных лизосом у мышей этой группы осталась неизменной (рисунок 24). Величина объемной плотности (Vv) первичных лизосом у новорожденных мышей линии СВА была больше по сравнению с аналогичными показателями у мышей этой же линии, контрольной группы в 1,83 раза; и в 1,65 раза в сравнении с мышами линии С57В1/6, перенесших ХВУГ (рисунок 24; см. приложение Б таблица Б.2).



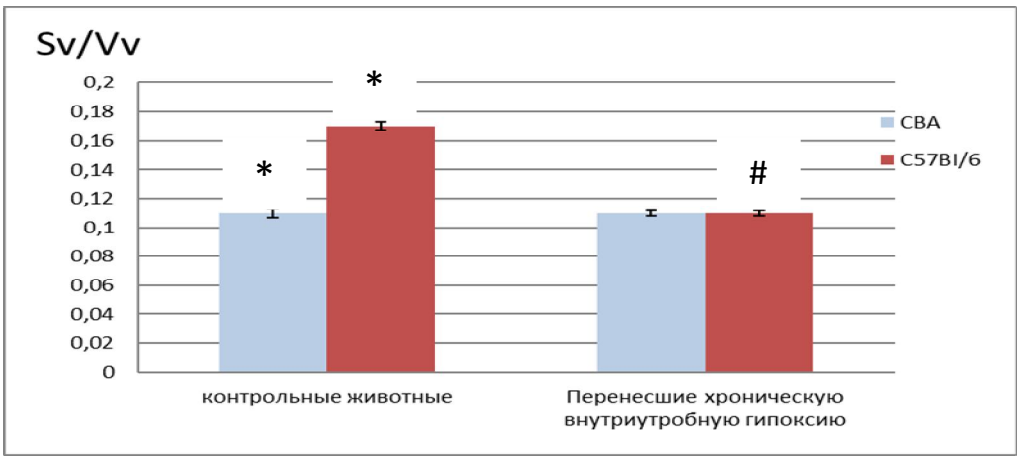
Примечание: * – достоверные межлинейные различия средних величин соответствующих параметров ($p < 0,05$). # – достоверные различия между средними величинами, соответствующих параметров, у мышей в опытной группе и в группе контроля ($p < 0,05$).

Рисунок 19 – Объемная плотность (Vv, %) ГЭПС в КК у новорожденных мышей линий C57Bl/6 и CBA, подвергнутых ХВУГ



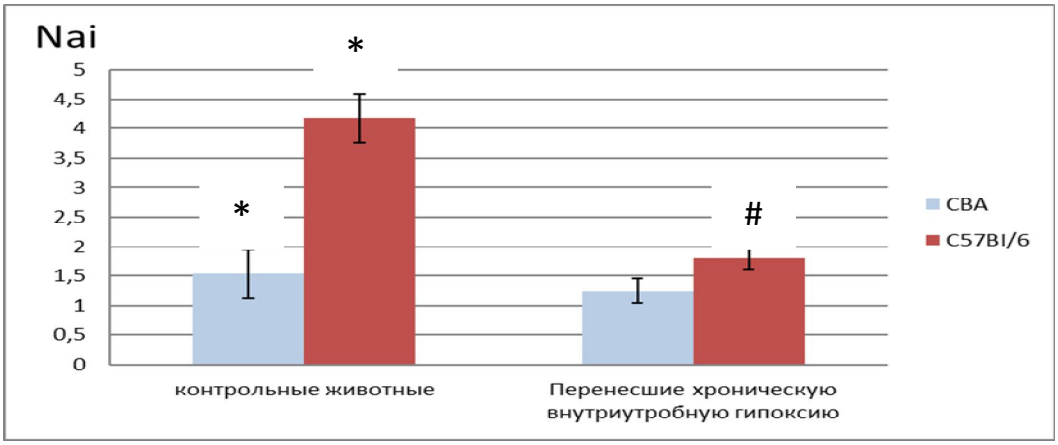
Примечание: * – достоверные межлинейные различия средних величин соответствующих параметров ($p < 0,05$). # – достоверные различия между средними величинами, соответствующих параметров, у мышей в опытной группе и в группе контроля ($p < 0,05$).

Рисунок 20 – Поверхностная плотность (Sv, мкм^2/мкм^3) ГЭПС в КК у новорожденных мышей линий C57Bl/6 и CBA, подвергнутых ХВУГ



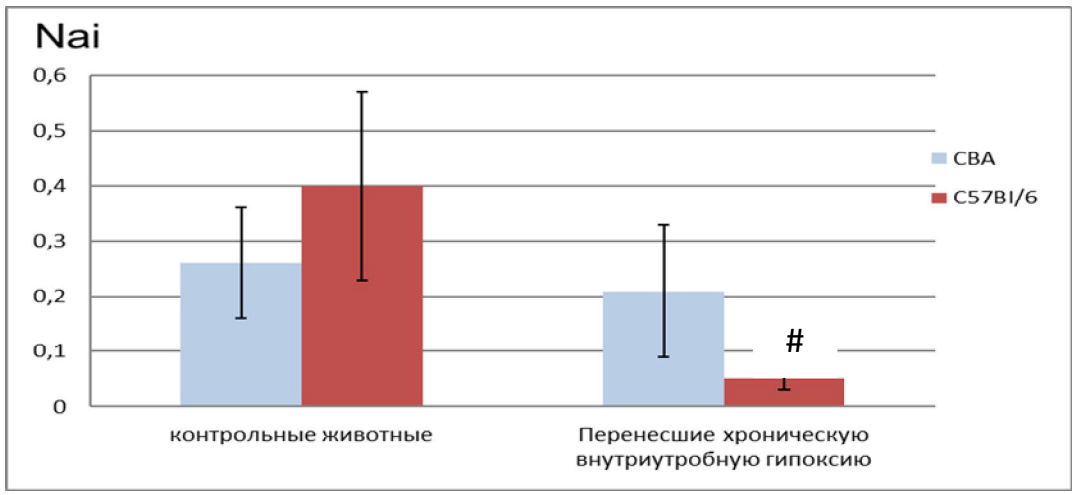
Примечание: * – достоверные межлинейные различия средних величин соответствующих параметров ($p < 0,05$). # – достоверные различия между средними величинами, соответствующих параметров, у мышей в опытной группе и в группе контроля ($p < 0,05$).

Рисунок 21 – Соотношение показателей величин поверхностной (Sv) и объемной (Vv) плотностей ГЭПС в КК у новорожденных мышей линий C57Bl/6 и CBA, подвергнутых ХВУГ



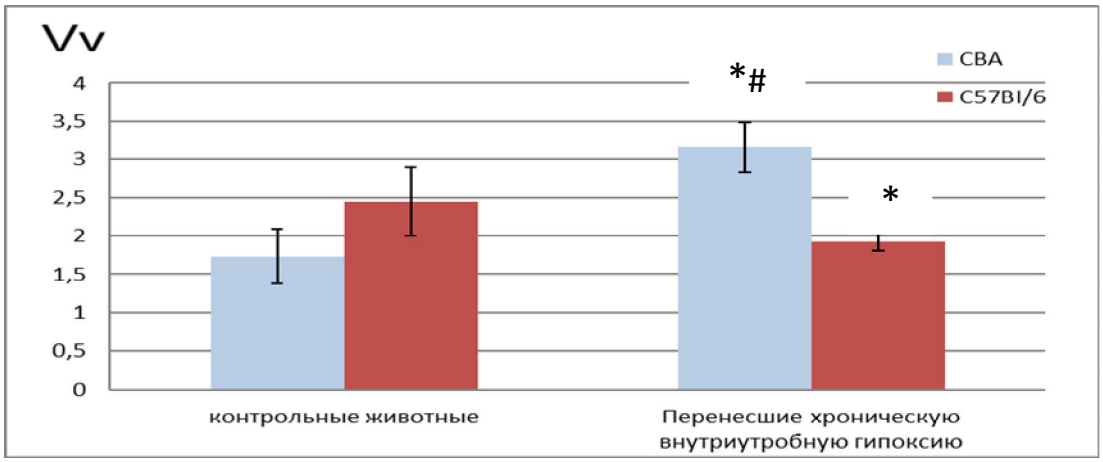
Примечание: * – достоверные межлинейные различия средних величин соответствующих параметров ($p < 0,05$). # – достоверные различия между средними величинами, соответствующих параметров, у мышей в опытной группе и в группе контроля ($p < 0,05$).

Рисунок 22 – Численная плотность (Na_i) прикрепленных рибосом ГЭПС в КК у новорожденных мышей линий C57Bl/6 и CBA, подвергнутых ХВУГ



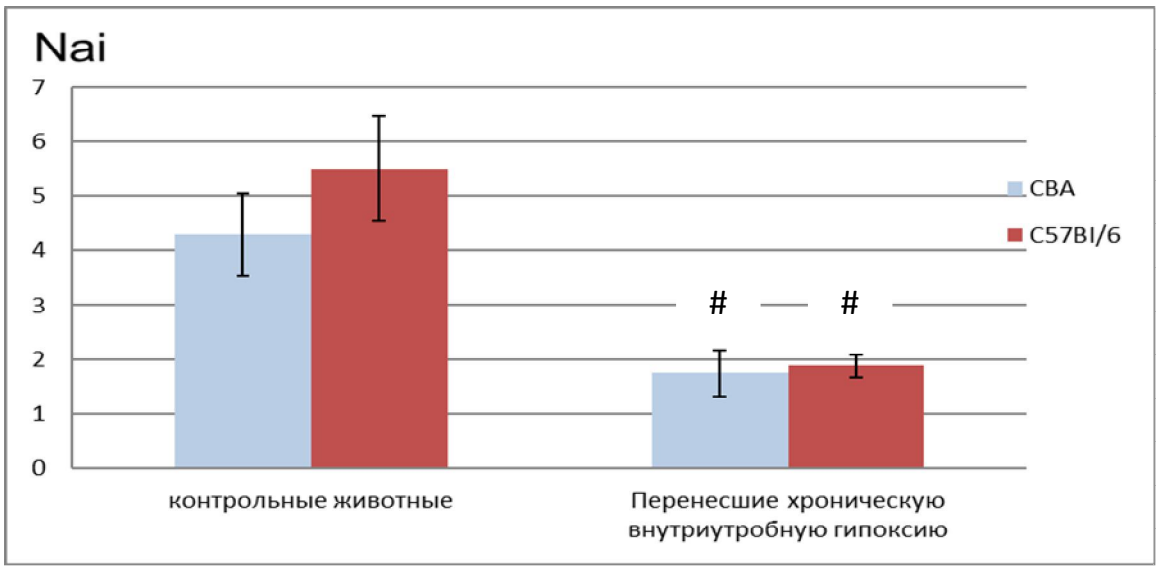
Примечание: # – достоверные различия между средними величинами, соответствующих параметров, у мышей в опытной группе и в группе контроля ($p < 0,05$).

Рисунок 23 – Численная плотность (Na_i) первичных лизосом КК у новорожденных мышей линий С57В1/6 и СВА, подвергнутых ХВУГ



Примечание: * – достоверные межлинейные различия средних величин соответствующих параметров ($p < 0,05$). # – достоверные различия между средними величинами, соответствующих параметров, у мышей в опытной группе и в группе контроля ($p < 0,05$).

Рисунок 24 – Объемная плотность (Vv, %) первичных лизосом КК у новорожденных мышей линий С57В1/6 и СВА, подвергнутых ХВУГ



Примечание: # – достоверные различия между средними величинами, соответствующих параметров, у мышей в опытной группе и в группе контроля ($p < 0,05$).

Рисунок 25 – Численная плотность (Na_i) вторичных лизосом в КК у новорожденных мышей линий C57B1/6 и CBA, подвергнутых ХВУГ

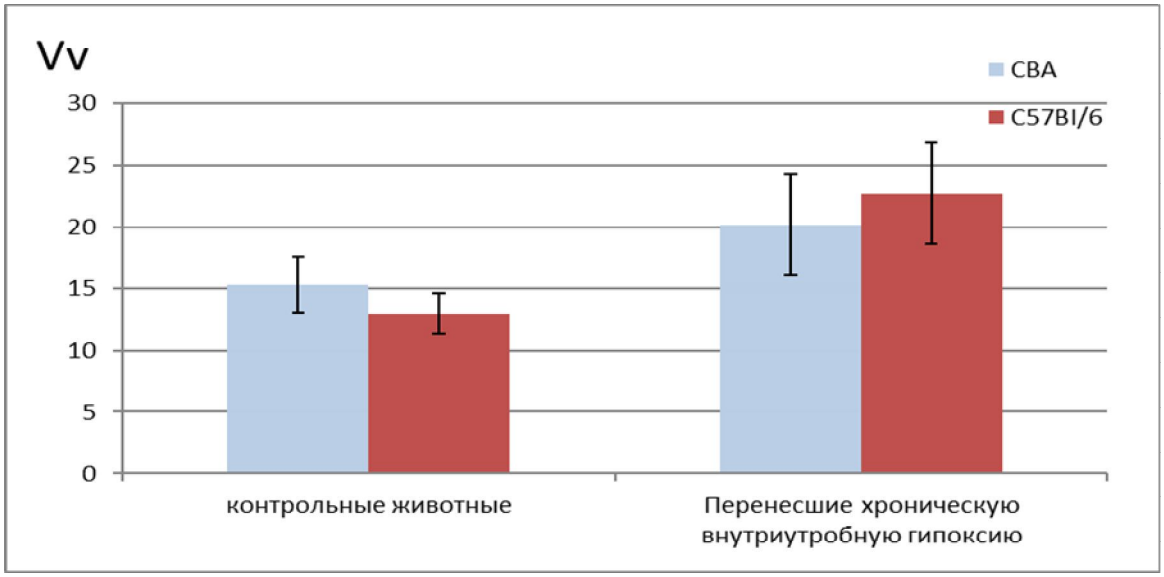


Рисунок 26 – Объемная плотность (Vv, %) вторичных лизосом в КК у новорожденных мышей линий C57B1/6 и CBA, подвергнутых ХВУГ

Численная плотность (Na_i) вторичных лизосом (фаголизосом) у мышей обеих линий, подвергнутых ХВУГ, уменьшилась по сравнению с таковой у мышей контрольной группы, у мышей линии СВА – в 2,45 раза и у мышей линии С57В1/6 – в 2,93 раза (рисунок 25). При этом значение показателя объемной плотности (Vv) вторичных лизосом у мышей линии С57В1/6 возросло в 1,57 раза, тогда как, у мышей линии СВА – значимо не изменилось (рисунок 26; см. приложение Б таблица Б.2).

В фаголизосомах КК у мышей обеих линий определяли разрушенные эритроциты, органеллы или участки цитоплазмы гепатоцитов и другой недифференцированный материал (рисунок 27).

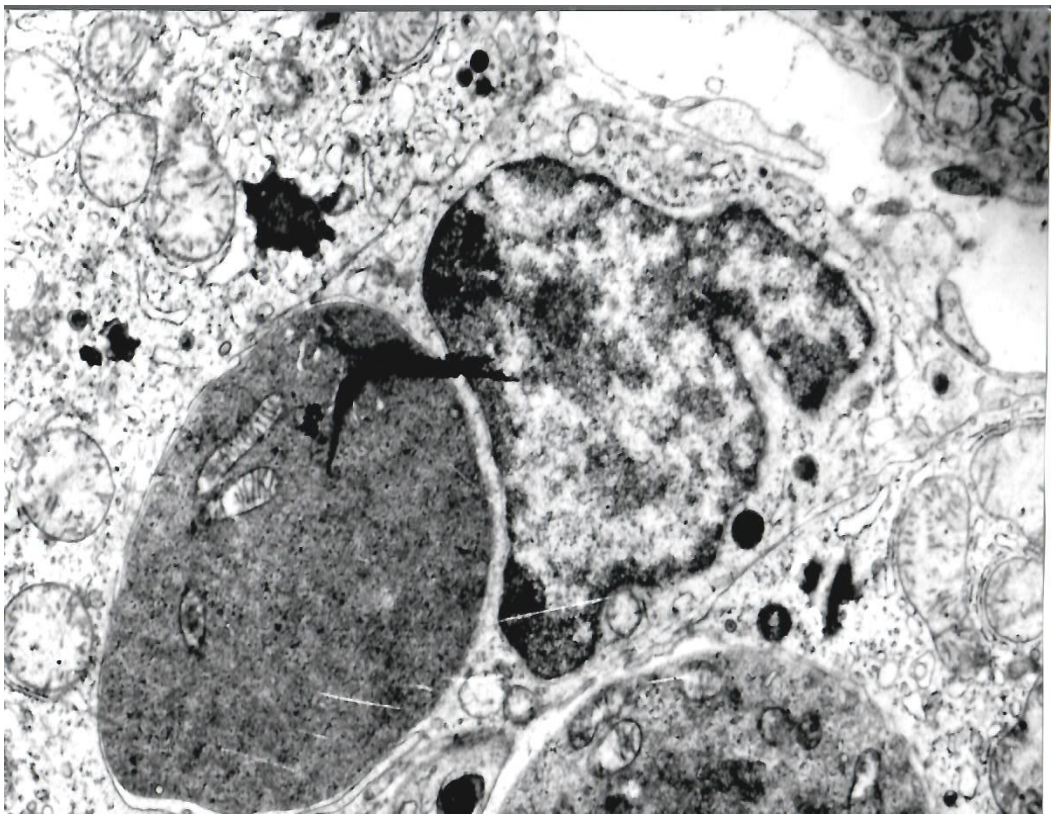


Рисунок 27 – Фаголизосома в КК у новорожденной мышей линии С57В1/6, подвергнутой ХВУГ. Электронограмма, ув. × 5600

3.2.2 Экспрессия MMP-9 и TIMP-1 непаренхиматозными клетками печени у новорожденных мышей линий СВА и С57В1/6, подвергнутых хронической внутриутробной гипоксии

Воздействие ХВУГ привело к значительным деструктивным изменениям в паренхиме печени однодневных мышат исследуемых линий.

При гистологическом исследовании печени новорожденных мышат линий СВА и С57Bl/6, перенесших в анамнезе ХВУГ, регистрировали дистрофические изменения в гепатоцитах, очаги микронекрозов, множественные митозы, в том числе – патологические, многочисленные очаги экстрамедуллярного кроветворения (рисунок 28), увеличенное содержание аргирофильных волокон, расположенных перисинусоидально и периваскулярно в портальных трактах (рисунок. 29).

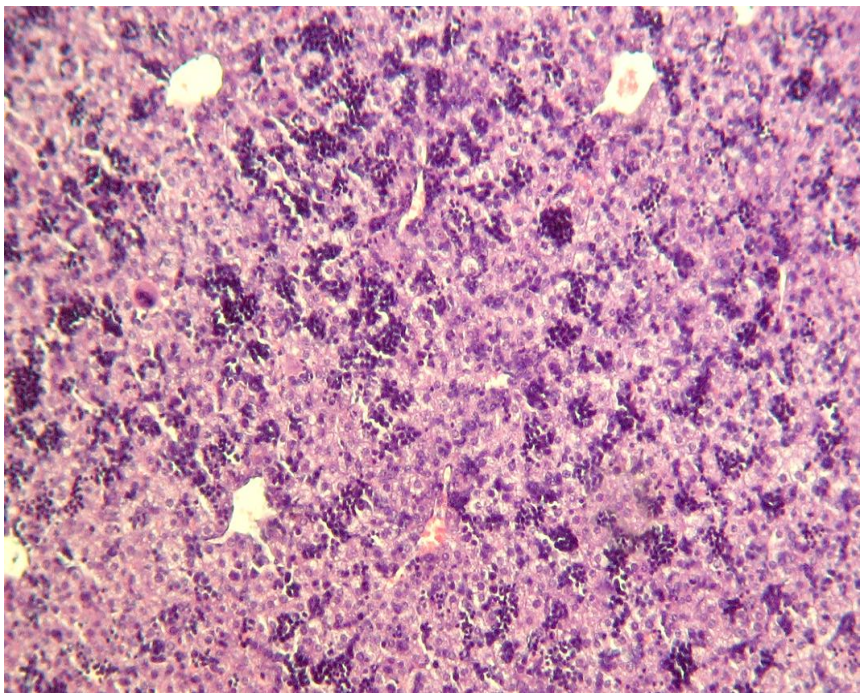


Рисунок 28 – Многочисленные очаги экстрамедуллярного кроветворения, дистрофические и некротические изменения гепатоцитов у новорожденной мыши линии С57В1/6, подвергнутой ХВУГ. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. × 100

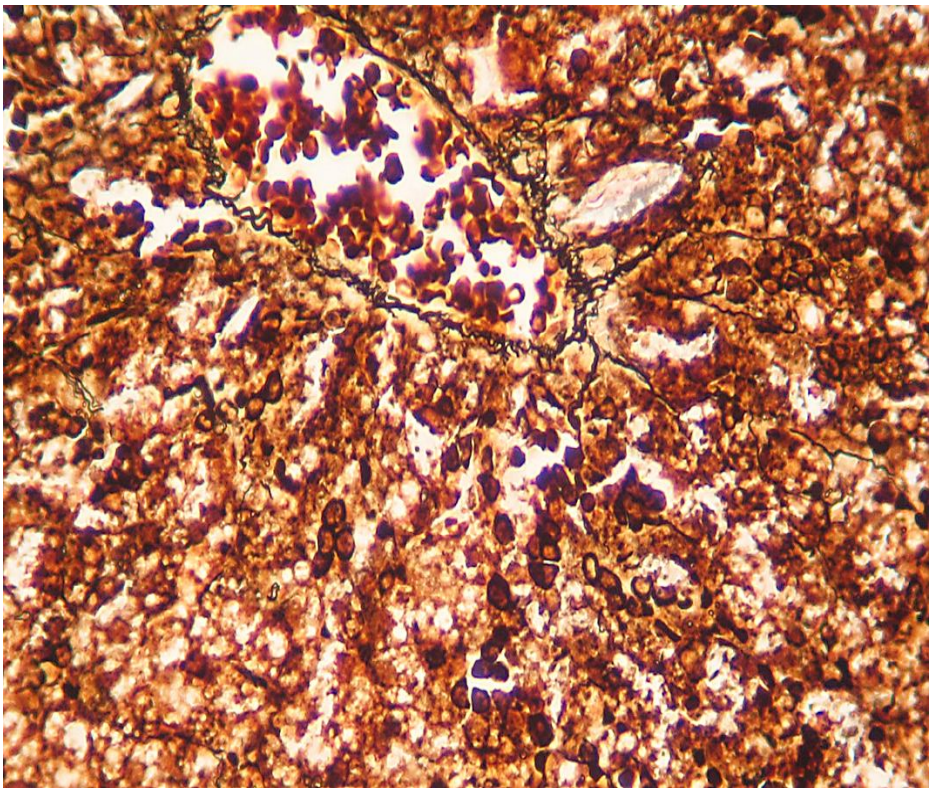


Рисунок 29 – Аргирофильные волокна в паренхиме печени новорожденной мыши С57В1/6, подвергнутой ХВУГ. Окраска по Гордону – Свиту. Ув. × 200

При иммуногистохимическом исследовании цитоплазматической экспрессии матричной металлопротеиназы-9 (ММР-9) и тканевого ингибитора-1 (TIMP-1) клетками печени у новорожденных мышей линий СВА и С57В1/6, выношенных в условиях ХВУГ, регистрировали положительные реакции на антитела к ММР-9 и TIMP-1 в клетках очагов экстрамедуллярного кроветворения и синусоидальных клетках (крупнозернистый продукт реакции) (рисунки 2 и 30).

В непаренхиматозных клетках (очагов экстрамедуллярного кроветворения и синусоидальных клетках) печени новорожденных мышей, сравниваемых линий, подвергнутых ХВУГ, выявили межлинейные различия в экспрессии ММР-9 и TIMP-1. Большее число клеток, экспрессирующих ММР-9 и TIMP-1, было обнаружено в печени мышей линии СВА, перенесших ХВУГ. Меньшее количество непаренхиматозных клеток печени, экспрессирующих ММР-9 и TIMP-1, наблюдали у мышей линии С57В1/6, так же подвергнутых ХВУГ.

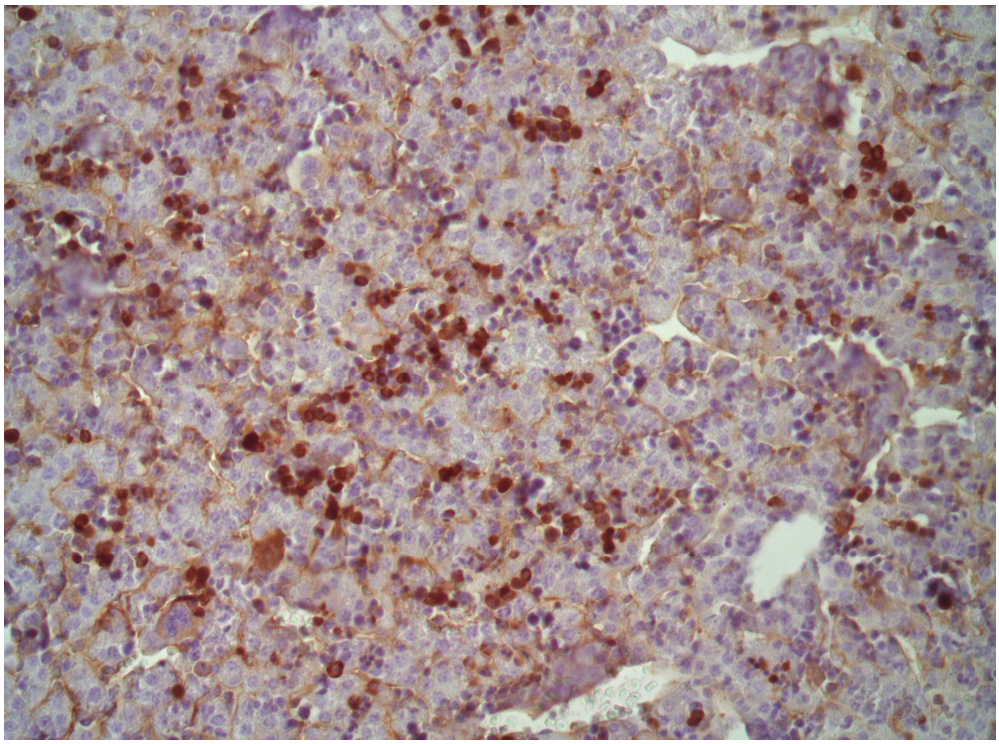
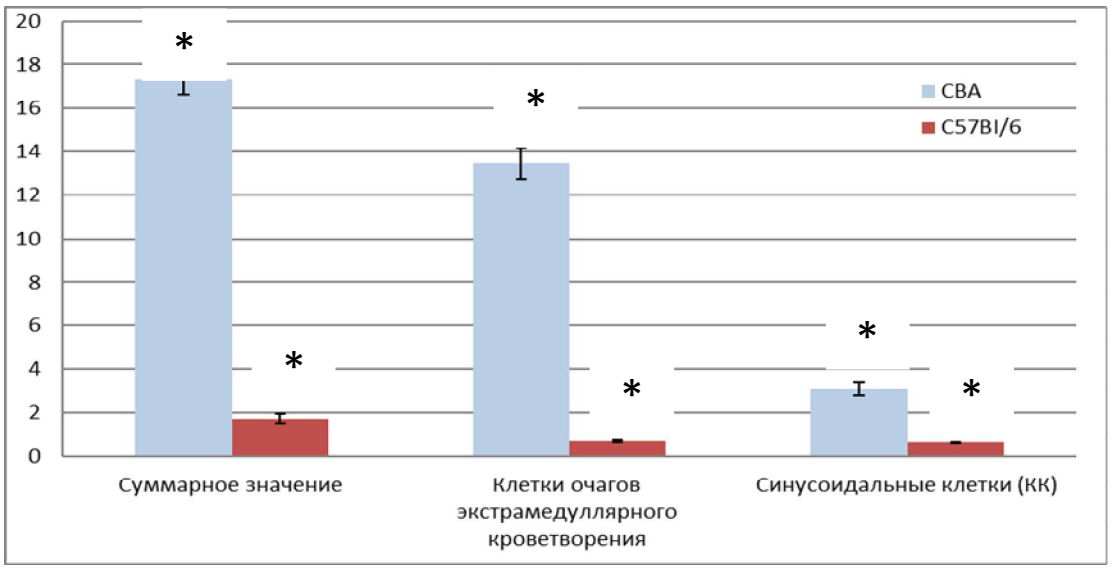


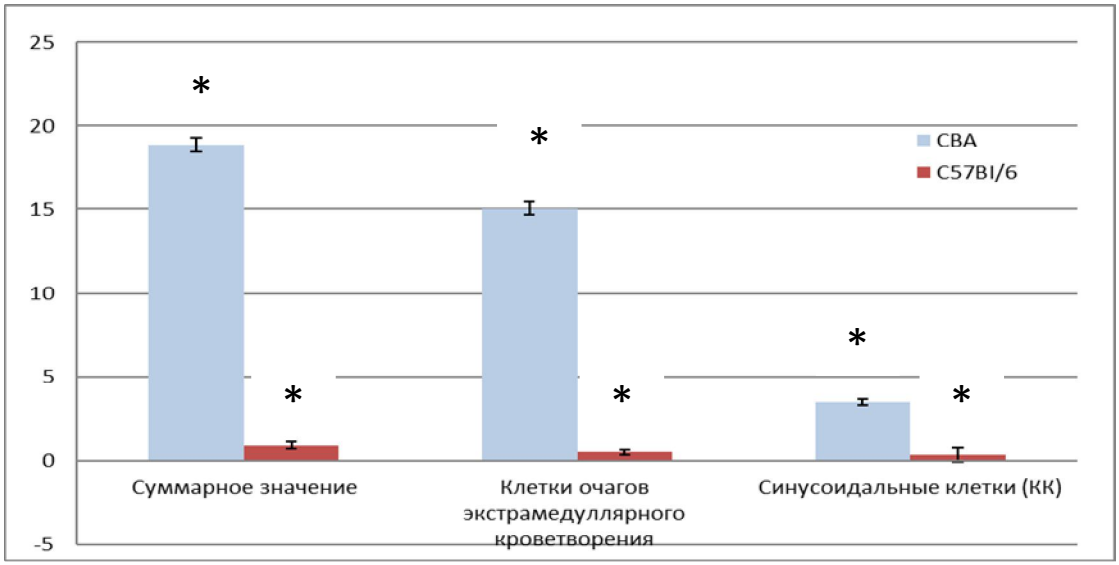
Рисунок 30 – Экспрессия ММР-9 в клетках печени новорожденной мыши линии С57В1/6, подвергнутой ХВУГ: окрашенный продукт визуализируется гомогенно в клетках очагов экстрамедуллярного кроветворения, синусоидальных клетках. Докраска гематоксилином, ув. × 100

Суммарное (общее) количество клеток печени (клетки экстрамедуллярного кроветворения, синусоидальные клетки), экспрессирующих ММР-9 у мышей линии СВА, подвергнутых ХВУГ, в 10,1 раза превышало аналогичный показатель у мышей линии С57В1/6 (рисунок 31). Одновременно с увеличением экспрессии ММР-9 клетками печени нами зарегистрировано повышение количества клеток печени, экспрессирующих TIMP-1. Величина суммарного показателя количества клеток печени, экспрессирующих TIMP-1 клетками печени у новорожденных мышей линии СВА, подвергнутых ХВУГ, была выше в 21,22 раза, чем у мышей линии С57Bl/6 (рисунок 32; см. приложение Б таблица Б.3).



Примечание: * – достоверные межлинейные различия средних величин соответствующих параметров ($p < 0,05$).

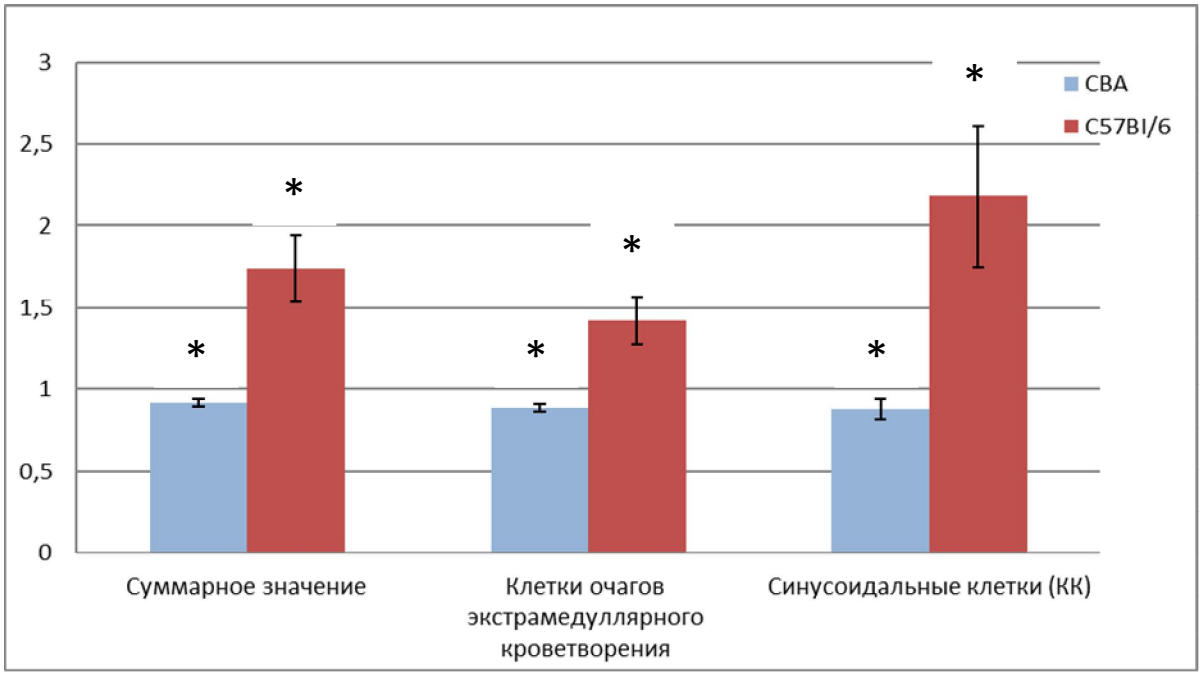
Рисунок 31 – Количество (%) непаренхиматозных клеток печени, экспрессирующих MMP-9, у мышей линий CBA и C57Bl/6, подвергнутых ХВУГ



Примечание: * – достоверные межлинейные различия средних величин соответствующих параметров ($p < 0,05$).

Рисунок 32 – Количество (%) непаренхиматозных клеток печени, экспрессирующих TIMP-1, у мышей линий CBA и C57Bl/6, подвергнутых ХВУГ

Выявленное одновременное повышение суммарного количества клеток печени, экспрессирующих MMP-9 и TIMP-1 (рисунки 31 и 32), у мышей линии CBA, подвергнутых ХВУГ, вероятно, можно рассматривать как компенсаторную реакцию, направленную на подавление гиперстимулированной активности MMP-9 [148]. Как результат высокой экспрессии MMP-9 и интенсивной экспрессии ее ингибитора, TIMP-1, у мышей линии CBA, подвергнутых ХВУГ, соотношение количества клеток, экспрессирующих MMP-9 / TIMP-1 оказалось немного меньше 1 (MMP-9 / TIMP-1 < 1,0), тогда как у мышей линии C57Bl/6 данный показатель был значительно больше «1,0» (MMP-9 / TIMP-1 > 1,0) (рисунок 33; см. приложение Б таблица Б.3).



Примечание: * – достоверные межлинейные различия средних величин соответствующих параметров ($p < 0,05$).

Рисунок 33 – Соотношение количества (%) непаренхиматозных клеток печени, экспрессирующих MMP-9 и TIMP-1, у мышей линий CBA и C57Bl/6, подвергнутых ХВУГ

В норме TIMPs связываются с MMPs в соотношении 1 : 1, образуя нековалентные стехиометрические комплексы [227], необратимо ингибируя активность MMPs [216; 274].

Матриксные металлопротеиназы секретируются как проферменты различными нормальными или трансформированными клетками: нейтрофилами, моноцитами, макрофагами, фибробластами, эпителиальными и эндотелиальными клетками и активируются путем протеолитического расщепления [60; 61; 74; 102; 219; 285]. При воздействии таких медиаторов, как факторы роста или цитокины, экспрессия MMP-9 может быть индуцирована и в клетках других типов [206].

Поэтому представлялось важным оценить вклад в уровень суммарной экспрессии MMP-9 и TIMP-1 различными клетками печени новорожденных мышей. Высокие показатели суммарной иммуногистохимической реакции клетками печени новорожденных мышей обусловлены высокими значениями, изучаемых показателей (экспрессии MMP-9 и TIMP-1) в клетках очагов экстрамедуллярного кроветворения и, в меньшей степени, синусоидальных клетках. Количество гепатоцитов, экспрессирующих MMP-9 и TIMP-1 у мышей обеих линий, подвергнутых ХВУГ, было незначительным (единично окрашенные клетки), межлинейных различий по экспрессии паренхиматозными клетками не наблюдали (см. приложение Б таблица Б.3).

В клетках очагов экстрамедуллярного кроветворения у мышей линии СВА, подвергнутых ХВУГ, количество клеток печени, экспрессирующих MMP-9 в 19,76 раза превышало аналогичный показатель у мышей линии C57B1/6 (рисунок 31), TIMP-1 – в 29,5 раза (рисунок 32). Соотношение количества клеток, экспрессирующих MMP-9 / TIMP-1 (< 1,0) в клетках очагов экстрамедуллярного кроветворения у мышей линии СВА, подвергнутых ХВУГ, было ниже – в 1,6 раза аналогичного показатель у мышей линии C57Bl/6 (MMP-9 / TIMP-1 > 1,0) (рисунок 33; см. приложение Б таблица Б.3).

КК сама является продуцентом MMPs и их ингибиторов, ей же отводится ведущая регуляторная роль в резистентности гепатоцитов. Поэтому была дана оценка уровня экспрессии MMP-9 и TIMP-1 и в синусоидальных клетках

(включая КК). В синусоидальных клетках у мышей линии СВА, подвергнутых ХВУГ, количество клеток, экспрессирующих ММР-9 в 4,97 раз превышало аналогичный показатель у мышей линии С57В1/6 (рисунок 31), количество клеток, экспрессирующих TIMP-1 – в 9,94 раза (рисунок 32). При этом, для синусоидальных клеток соотношение количества клеток, экспрессирующих ММР-9 / TIMP (< 1,0) у мышей линии СВА, подвергнутых ХВУГ, было ниже – в 2,48 раза аналогичного показателя у мышей линии С57BL/6 (ММР-9 / TIMP > 1,0) (рисунок 33; см. приложение Б таблица Б.3).

Следует отметить более низкое количество синусоидальных клеток печени, экспрессирующих TIMP-1 у новорожденных мышей линии С57В1/6, подвергнутых ХВУГ, и, как следствие, соотношение количества клеток, экспрессирующих ММР-9 / TIMP-1 было > 1. При этом соотношение количества клеток, экспрессирующих ММР-9 / TIMP-1 у мышей линии СВА, подвергнутых ХВУГ, в 1,89 раза было ниже такового у мышей линии С57Bl/6 (рисунок 33; см. приложение Б таблица Б.3).

Таким образом, при оценке экспрессии ММР-9 и TIMP-1 клетками печени установлены отличия в количестве клеток, экспрессирующих ММР-9 и TIMP-1 у новорожденных мышей изучаемых линий, подвергнутых ХВУГ. У мышей линии С57В1/6, в отличие от мышей линии СВА, наблюдали меньшее количество клеток, экспрессирующих ММР-9, но и еще более малое количество непаренхиматозных клеток печени (очагов экстрамедуллярного кроветворения и синусоидальные клетки), экспрессирующих TIMP-1, что обусловило высокое соотношение количества клеток, экспрессирующих ММР-9 / TIMP-1 (> 1,0), тогда как у мышей линии СВА, подвергнутых ХВУГ, несмотря на более высокое количество клеток, экспрессирующих ММР-9 и TIMP-1, соотношение количества клеток, экспрессирующих ММР-9 / TIMP-1 было меньшим (< 1,0).

Ответом на любое экстремальное воздействие является активация систем адаптации, однако скорость их развития, а главное, степень истощения компенсаторных реакций могут различаться. Именно от этих факторов, в конечном счете, зависит жизнеспособность организма [92].

Наблюдаемая у мышей линии С57В1/6, перенесших ХВУГ, гипоплазия энергопродуцирующего и белоксинтезирующегоаппаратов (уменьшение Vv мембран митохондрий и ГЭПС) в КК и преобладание количества непаренхиматозных клеток, экспрессирующих ММР-9 над количеством непаренхиматозных клеток, экспрессирующих TIMP-1 в печени могло негативно отразиться на ее паренхиме. Ранее Надеевым А. П. с соавторами [86] было показано, что ХВУГ привела к выраженным деструктивным изменениям в паренхиме печени однодневных мышат линий СВА и С57Bl/6, более выраженным у новорожденных мышат линии С57В1/6, по сравнению с мышами линии СВА, степень выраженности показателей репаративной регенерации в печени также имели существенные отличия у мышей этих линий, они были более низкими у новорожденных мышей линии С57В1/6 [86].

Различия в реакции КК и экспрессии ММР-9 / TIMP-1 на ХВУГ у новорожденных мышей линий С57В1/6 и СВА находят свое подтверждениеи в отдаленных в результатах полученных Надеевым А. П. с соавторами [86], которые показали, что у мышей в возрасте 1-го месяца перенесших ХВУГ, величины деструктивных процессов в паренхиме печени были большими у мышей линии С57В1/6, чем у мышей линии СВА, при этом, оставалась низкая активность репаративных процессов в гепатоцитах и сохранялся дефицит массы тела [86].

Митохондрии – это «энергетические станции», которые непосредственно участвуют в обмене веществ через цикл Кребса и системы транспорта электронов дыхательной цепи. Хотя митохондрии и относятся к стабильным структурам, в клетках происходит их постоянное обновление. Деструкция (разрушение) избыточного числа митохондрий осуществляется при помощи процессов аутофагии вакуолями, которые играют роль вторичных лизосом [143; 283]. Причинами повреждения митохондрий могу стать: гипогликемия, гипоксия, ингибирование ферментов дыхательной цепи, разобщение окислительного фосфорилирования. Это проявляется увеличением числа, формы и размеров (чаще всего обусловлено их набуханием) митохондрий, изменением структуры крист (деформация крист и уменьшение их числа встречается при пониженной

активности митохондрий; увеличение числа крист митохондрий – свидетельство возрастающих функциональных потребностей клетки) [283].

Иванченко М. В., Твердохлеб И. В. [36] показали, что наиболее чувствительны к ХВУГ «высокоэнергетические митохондрии», наименее чувствительны – «низкоэнергетические».

Из всего выше сказанного, можно предположить, что исходные морфофункциональные различия органелл у новорожденных мышей линий С57В1/6 и СВА обусловил специфический ответ митохондрий и ГЭПС в КК на гипоксию. У мышей линии С57Bl/6, клетки Купфера которых характеризовались исходно более развитой сетью мембран митохондрий (см. приложение А таблица А.1) и формирующих ГЭПС с обилием прикрепленных к ним рибосом (см. приложение А таблица А.1) наблюдали, по-видимому, перенапряжение или истощение резерва митохондрий, ГЭПС, что отражает степень компенсации повреждения – приводит к смещению динамического равновесия, характеризующееся как «дезадаптивное» состояние в клетке. Тогда как у мышей линии СВА морфофункциональное состояние КК можно расценить как «адаптивное».

Мыши линии СВА, с более низкими в сравнении с мышами линии С57В1/6 изначальными показателями обменных и энергетических процессов в КК, ответили на ХВУГ более адекватным компенсаторным процессом. Это подтверждает, что полноценность функциональной адаптации организма к воздействию ХВУГ в значительной степени определяется индивидуальной толерантностью.

В условиях ХВУГ предполагаемых механизмов повреждения печени у мышей оппозитных линий, может быть несколько.

С одной стороны – это истощение энергетических ресурсов в КК у мышей линии С57В1/6. По-видимому, в таких условиях КК оказывают на гепатоциты повреждающее действие [210]. Данное предположение подтверждают результаты, полученные Кирпатовским В. И. с соавторами, которые показали, что повреждения эпителия слизистой оболочки мочеточника и мочевого пузыря у

детей, вызванные внутриутробной гипоксией, сопровождаются ухудшением АТФ-синтезирующей способности митохондрий и развитием энергодефицитного состояния, негативно влияющего на эпителий слизистой оболочки данных органов, в результате чего развивается повреждение эпителиоцитов, потеря ими барьерных свойств и развитие воспаления.

С другой стороны – угнетение белоксинтетических процессов в КК и, вероятно, потеря ее регуляторной и контролирующей роли над повреждающими и репаративными процессами в печени. КК стимулируют продукцию протеаз, активных форм кислорода и азота. Поэтому можно предположить, что деструктивные процессы в паренхиме печени у мышей, перенесших ХВУГ, могли явиться так же следствием оксидативного стресса вследствие активации процессов липопероксидации, которые не в полной мере компенсированы антиоксидантной системой крови [15; 39]. Литературные данные свидетельствуют о том, что гипоксическое воздействие в антенатальном периоде индуцирует развитие окислительного стресса, как на органном уровне, так и на уровне организма в целом и имеет и отдаленные структурные последствия для печени крыс [15; 86].

Активные формы кислорода не только вызывают свободно-радикальное окисление биомолекул, но и являются регуляторами активности ряда ферментов, включая матриксные металлопротеиназы, через окисление специфических тиольных групп белков моогут изменять конформацию белковых факторов транскрипции, что приводит к их активации или ингибированию [15; 148]. Так, Захарчук Н. В. с соавторами [148] показали прямое индуцирующее действие активных форм кислорода на матриксные металлопротеиназы при инкубации очищенных предшественников внеклеточных матриксных металлопротеиназ про‑ММР-2 и про-ММР-9 гладких миоцитов человека с системой ксантин – ксантиноксидаза. Возможно, разное соотношение активности ферментов свободно-радикального окисления и антиоксидантной защиты обусловило различную экспрессию ММР-9 и TIMP-1 КК и, как следствие, соответствующую динамику развития деструктивных процессов в печени у мышей оппозитных

линий на фоне ХВУГ. Соотношение количества клеток, экспрессирующих ММР-9 и TIMP-1 (ММР-9 / TIMP-1) хорошо коррелировало с гистологическими изменениями в паренхиме печени ранее, показанными Надеевым А. П. с соавт. [86] – степенью деструктивных и репаративных процессов. Большая степень повреждения паренхимы печени у мышей линии С57В1/6, перенесших ХВУГ, возможно, обусловлена и высоким соотношением количества клеток, экспрессирующих ММР-9 / TIMP-1.

MMPs считают наиважнейшим фактором в развитии деградации экстрацеллюлярного матрикса, «критическим шагом» в его ремоделировании, маркером активности воспаления, фиброза, склероза тканей [34].

Помимо экстрацеллюлярной активности, MMPs проявляют активность и в ядрах клеток различных типов, а также принимающих участие в модификации целого ряда молекул, включая латентные факторы роста, ингибиторы протеиназ, поверхностные рецепторы клеток и пр. [61; 74; 219; 285].

Активация ММР-9, сопряженная с миграцией лейкоцитов в патологический очаг, является одним из пусковых патогенетических механизмов развития перинатального поражения ЦНС, бронхолёгочной дисплазии у недоношенных детей [45; 76], слизистой оболочки кишечника [262], а участие ММП-9 в деградации базальной мембраны сосудистой стенки сопровождается развитием отёчного и геморрагического синдромов у новорождённых [69].

Установлено, что протеолитическая активность MMPs регулируется балансом между активацией и подавлением проферментов посредством эндогенных субстратов, таких как альфа-2-макроглобулин и тканевыми ингибиторами матричных металлопротеиназ (TIMP) [190; 219]. Разнонаправленная динамика значений ММР-9 и TIMP-1 у новорождённых мышей разных линий с ХВУГ может быть сопряжена с ведущей ролью лейкоцитов, являющихся одними из основных продуцентов ММР-9 [60; 190; 219; 285] и обусловлена разным соотношением степени зрелости клеток (лейкоцитов) в очагах экстрамедуллярного кроветворения, снижением количества лейкоцитов, экспрессирующих TIMP-1 [113].

По-видимому, большее количество клеток, экспрессирующих ММР-9 и меньшее количество клеток, экспрессирующих TIMP-1 у новорожденных мышей линии С57Bl/6, перенесших ХВУГ, отражают активность процесса, сопровождающегося неконтролируемым протеолизом и свидетельствуют об активации процессов разрушения не столько внеклеточного матрикса, сколько паренхимы. Ранее Надевым А. П. с соавторами [86] было показано, что объемная плотность аргирофильных волокон в печени новорожденных мышей линий С57Bl/6, перенесшей ХВУГ значимо превышало аналогичный показатель у мышей линии СВА.

Таким образом, новорожденные мыши линии С57В1/6, имеющие в физиологических условиях более высокие уровни показателей обменных и энергетических процессов в КК, играющих одну из ключевых ролей в процессах регенерации печени, не обеспечивали адекватную адаптивную компенсаторную реакцию на ХВУГ, что сопровождалось более значимыми масштабами деструктивных изменений и низкой репаративной регенерацией, большей объемной плотностью аргирофильных волокон в печени [86].

У мышей линии СВА, в отличие от мышей линии С57В1/6, наблюдали иную динамику развития процесса адаптации к ХВУГ – отсутствие значимого угнетения морфо-функциональной активности КК и преобладание контролирующей функции TIMP-1 над ММР-9 в клетках печени, что, видимо, и уменьшило негативные последствия антенатального гипоксического фактора на печень.

3.3 Ультраструктурная организация клетки Купфера и характер экспрессии ММР-9 и TIMP-1 непаренхиматозными клетками печени у новорожденных мышей линий СВА и С57Bl/6, внутриутробно инфицированных С. *albicans*

Масса тела новорожденных мышей обеих линий, внутриутробно инфицированных С. *albicans*, была меньшей по сравнению с новорожденными

мышами соответствующих контрольным группам, у мышей линии СВА – на 32,58 %, у мышей линии С57В1/6 – на 18,24 % (таблица 7). Эти данные согласуются с данными клинических исследований о рождении маловесных детей при внутриутробном кандидозном инфицировании (ВКИ) [117]. При этом у мышей линии С57Bl/6, внутриутробно инфицированных *C. albicans*, масса тела оставалась большей, по сравнению с аналогичным показателем у мышей линии СВА, также подвергнутых ВКИ, на 31,54 % (таблица 7).

Таблица 7 – Масса тела (г) новорожденных мышей линий СВА и С57Bl/6, внутриутробно инфицированных С. *albicans* (M ± m)

Линии мышей	Группы мышей	
	контрольные	внутриутробно инфицированные С. *albicans*
СВА	1,32 ± 0,06*	0,89 ± 0,03*#
С57Bl/6	1,59 ± 0,03*	1,30 ± 0,03*#

Примечание: * – достоверные межлинейные различия средних величин соответствующих параметров ($p < 0,05$). # – достоверные различия между средними величинами, соответствующих параметров, у мышей в опытной группе и в группе контроля ($p < 0,05$).

3.3.1 Ультраструктура клетки Купфера у новорожденных мышей линий СВА и С57Bl/6, внутриутробно инфицированных С. *albicans*

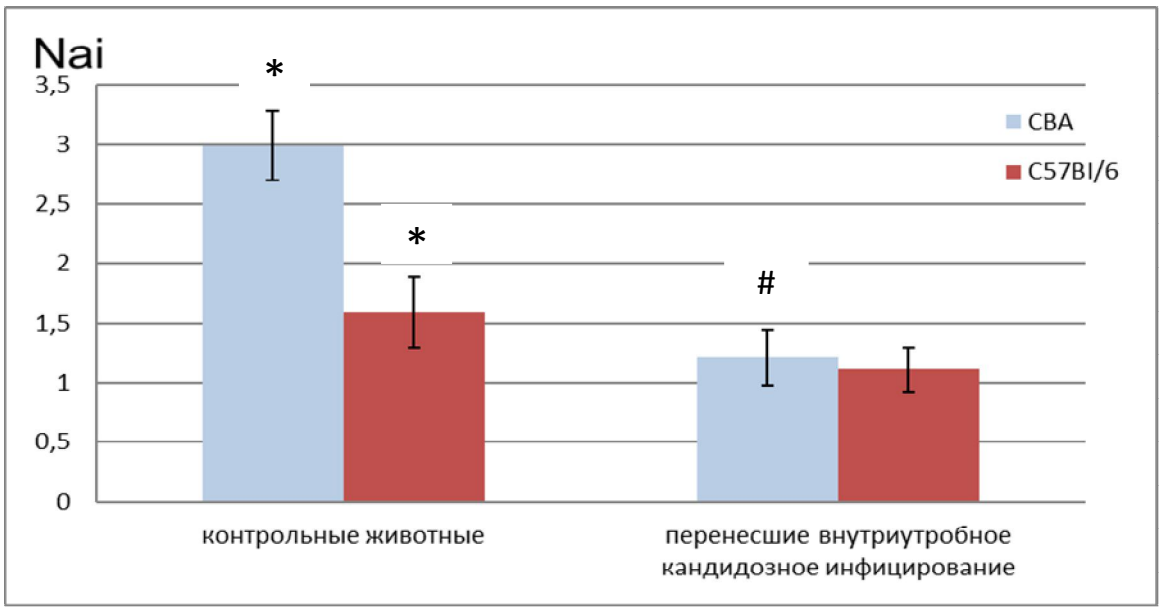
При электронномикроскопическом исследовании КК в печени у новорожденных мышей, внутриутробно инфицированных С. *albicans*, сравниваемых линий выявили различия по ряду изучаемых показателей.

У мышей линии С57В1/6 показатели численной (Na_i), объемной (Vv) и поверхностной (Sv) плотностей митохондрий КК не отличались от таковых у мышей контрольной группы (рисунки 34, 35, 36). Соотношение поверхностной и объемной плотностей (Sv/Vv) митохондрий КК у мышей линии С57В1/6, подвергнутых ВКИ, уменьшилось в 1,29 раза в сравнении с мышами этой линии контрольной группы, но при этом в сравнении с аналогичным показателем у

мышей линии СВА, подвергнутых ВКИ, оставался большим в 1,13 раза (рисунок 37; см. приложение В таблица В.1).

Численная плотность (Na_i) митохондрий в КК у новорожденных мышей линии СВА, подвергнуты ВКИ, уменьшилась в 2,47 раза в сравнении с аналогичным показателем контрольной группы (рисунок 34). Величины объемной (Vv) и поверхностной (Sv) плотностей митохондрий КК, соотношение поверхностной и объемной плотностей (Sv/Vv) митохондрий не отличались от аналогичных величин у мышей контрольных групп (рисунки 35, 36, 37; см. приложение В таблица В.1).

У мышей линии СВА, подвергнутых ВКИ, по сравнению с аналогичными показателями у контрольной группы мышей этой линии, выявили снижение показателей объемной (Vv) и поверхностной (Sv) плотностей ГЭПС КК в 1,31 и 1,25 раз (рисунки 38, 39), но не изменились соотношение Sv/Vv гранулярной ЭПС (рисунок 40; см. приложение В таблица В.1) и величина численной плотности (Na_i) прикрепленных рибосом в сравнении с аналогичными показателями у мышей контрольной группы (рисунок 41; см. приложение В таблица В.1).



Примечание: * – достоверные межлинейные различия средних величин соответствующих параметров ($p < 0,05$). # – достоверные различия между средними величинами, соответствующих параметров, у мышей в опытной группе и в группе контроля ($p < 0,05$).

Рисунок 34 – Численная плотность (Na_i) митохондрий КК у новорожденных мышей линий C57Bl/6 и CBA, внутриутробно инфицированных *C. albicans*

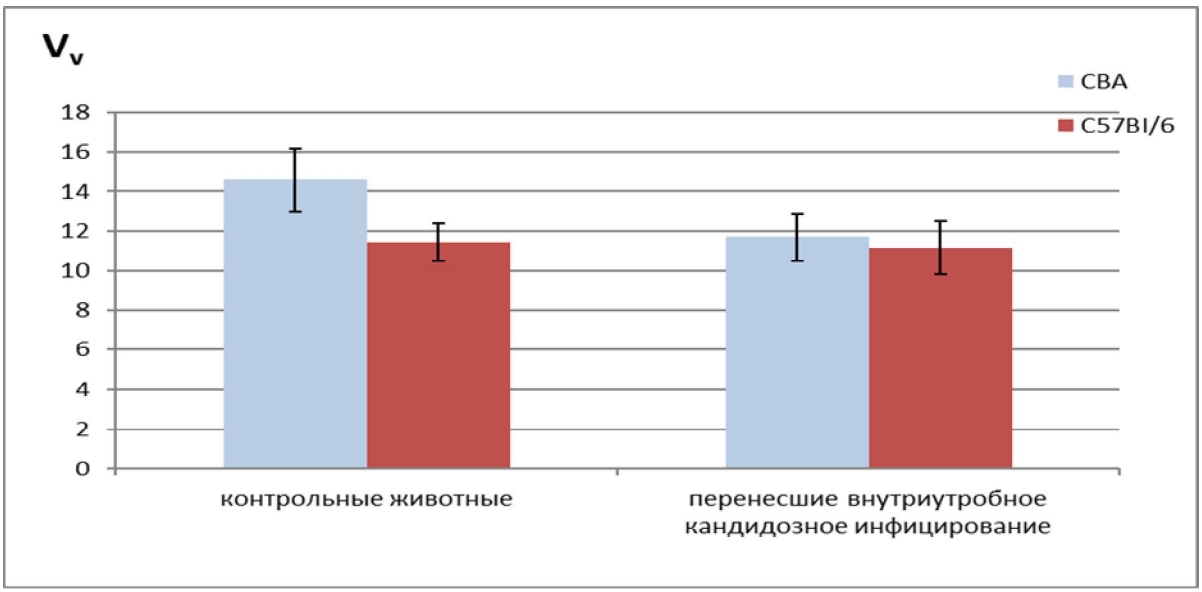


Рисунок 35 – Объемная (Vv) плотность митохондрий КК у новорожденных мышей линий C57Bl/6 и CBA, внутриутробно инфицированных *C. albicans*

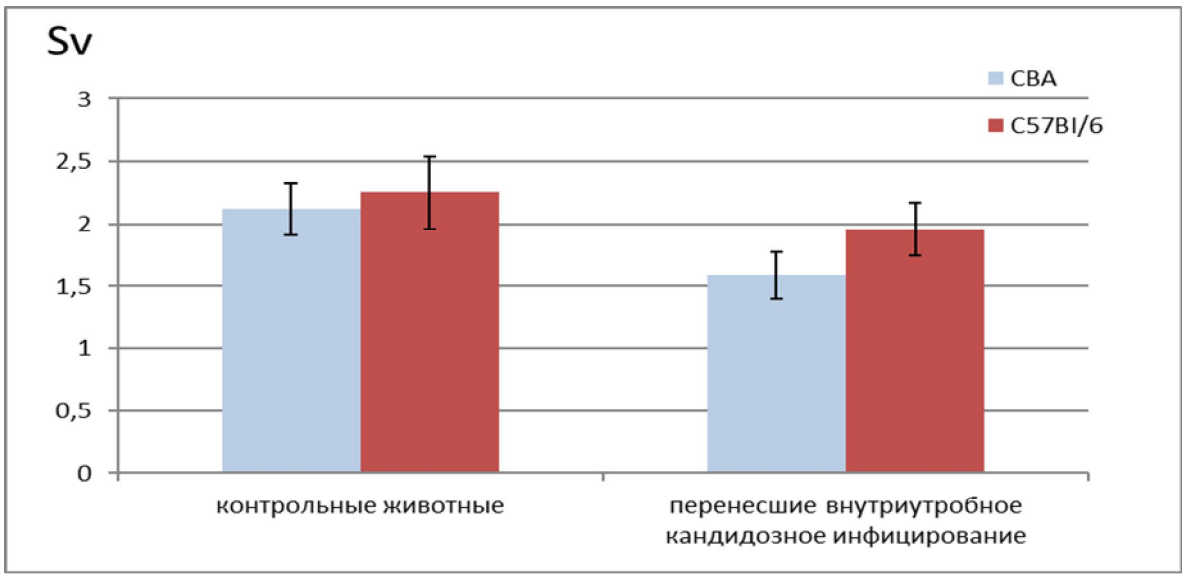
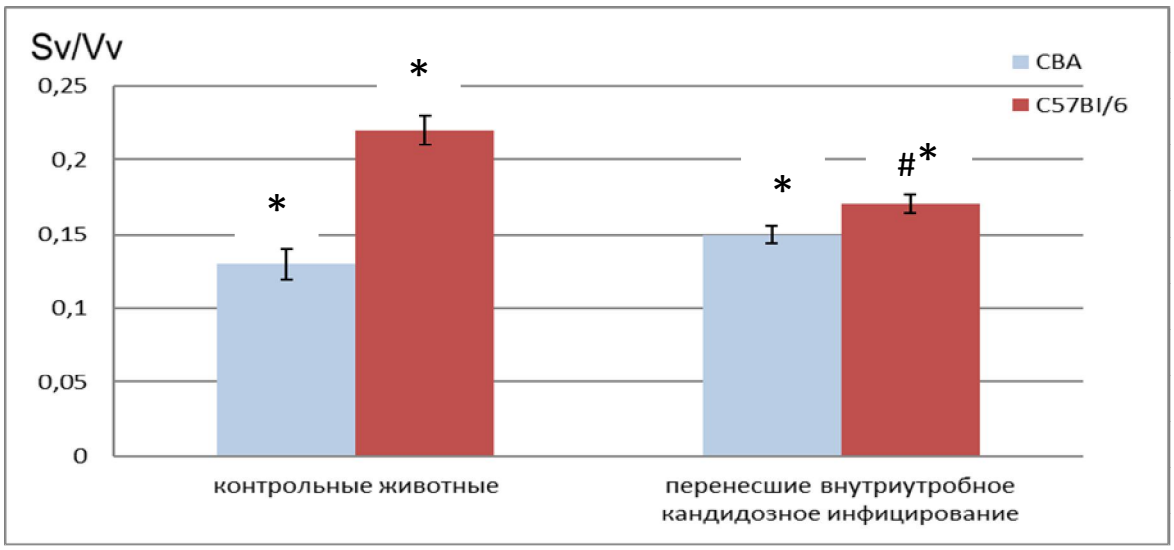


Рисунок 36 – Поверхностная (Sv) плотность митохондрий в КК у новорожденных мышей линий C57Bl/6 и CBA, внутриутробно инфицированных *C. albicans*



Примечание: * – достоверные межлинейные различия средних величин соответствующих параметров ($p < 0,05$). # – достоверные различия между средними величинами, соответствующих параметров, у мышей в опытной группе и в группе контроля ($p < 0,05$).

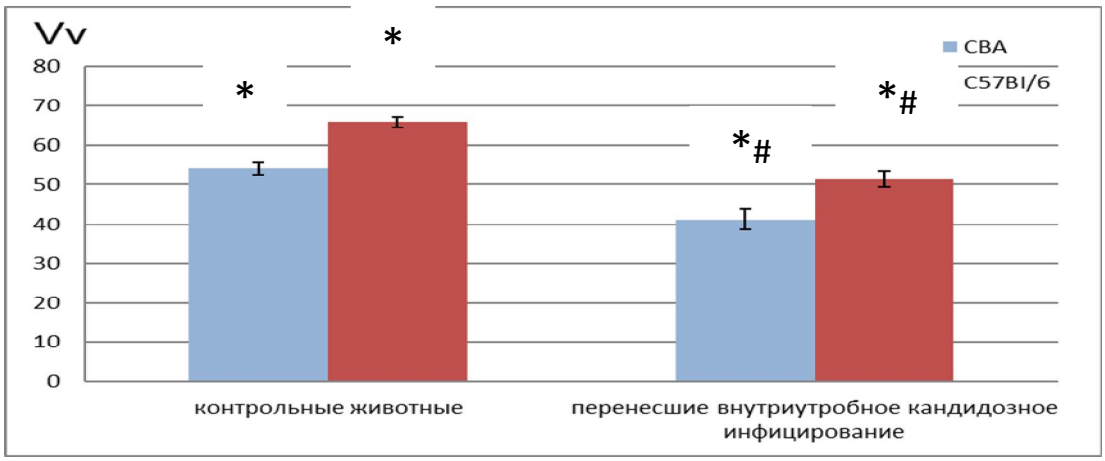
Рисунок 37 – Соотношение показателей величин поверхностной (Sv) и объемной (Vv) плотностей митохондрий в КК у новорожденных мышей линий C57Bl/6 и CBA, внутриутробно инфицированных *C. albicans*

При этом объемная плотность (Vv) ГЭПС КК у мышей линии СВА, подвергнутых ВКИ, была меньше величины аналогичного показателя у мышей линии С57В1/6, также подвергнутых ВКИ в 1,24 раза (рисунок 38; см. приложение В таблица В.1).

У мышей линии С57Bl/6, подвергнутых ВКИ, по сравнению с величинами аналогичных показателей у контрольной группы мышей этой линии, уменьшились величины показателей объемной (Vv), поверхностной (Sv) плотностей ГЭПС и соотношение величин Sv/Vv ГЭПС в 1,28, 1,77 и 1,42 раза соответственно (рисунки 38, 39, 40; см. приложение В таблица В.1).

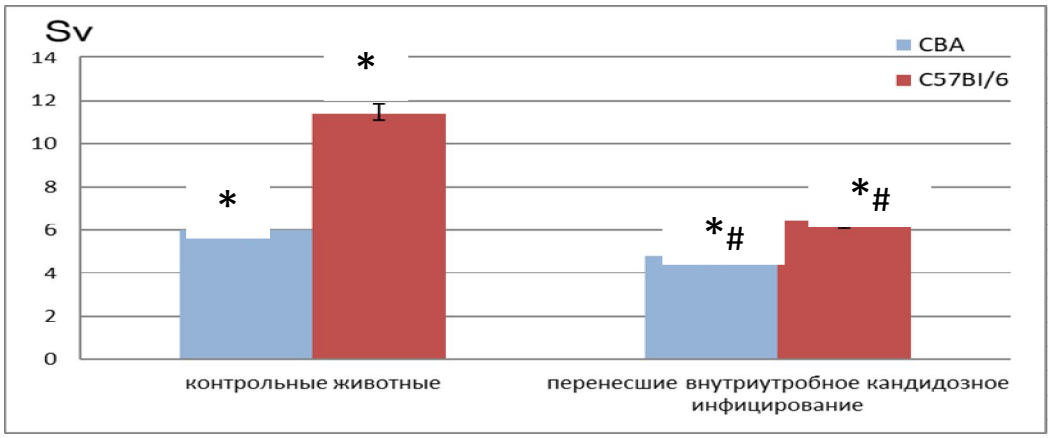
У мышей линии С57Bl/6, внутриутробно инфицированных *C. albicans*, показатели объемной (Vv) и поверхностной (Sv) плотностей ГЭПС КК были больше по сравнению с величинами аналогичных показателей у мышей линии СВА, также подвергнутых ВКИ, в 1,34 и 1,35 раза на 25,52 % и 25,67 %, соответственно (рисунки 38, 39, 40; см. приложение В таблица В.1).

Уменьшилась величина численной плотности (Na_i) прикрепленных рибосом ГЭПС КК у мышей линии С57Bl/6, перенесших ВКИ, в 2,31 раза, в сравнении с величиной аналогичного показателя у мышей, контрольной группы (рисунок 41). Межлинейных различий по данному показателю у мышей, внутриутробно инфицированных *C. albicans,* не наблюдали (рисунок 41; см. приложение В таблица В.1).



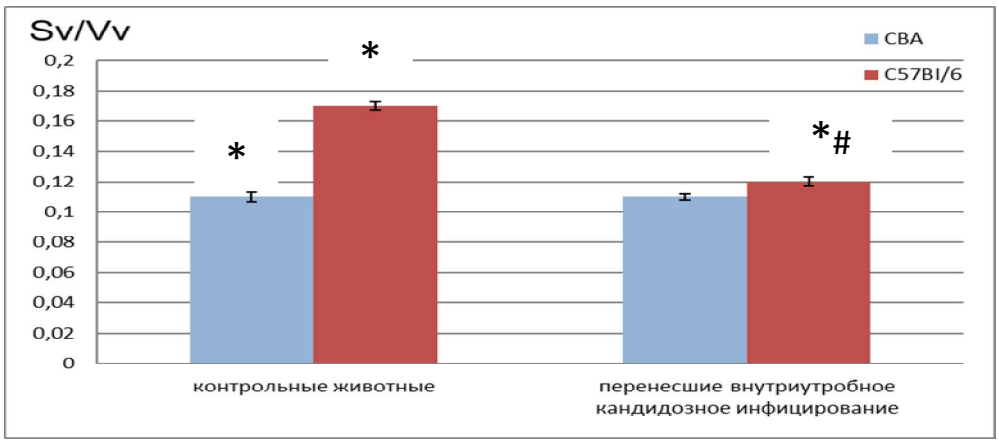
Примечание: * – достоверные межлинейные различия средних величин соответствующих параметров ($p < 0,05$). # – достоверные различия между средними величинами, соответствующих параметров, у мышей в опытной группе и в группе контроля ($p < 0,05$).

Рисунок 38 – Объемная плотность (Vv, %) ГЭПС в КК у новорожденных мышей линий C57Bl/6 и CBA, внутриутробно инфицированных *C. albicans*



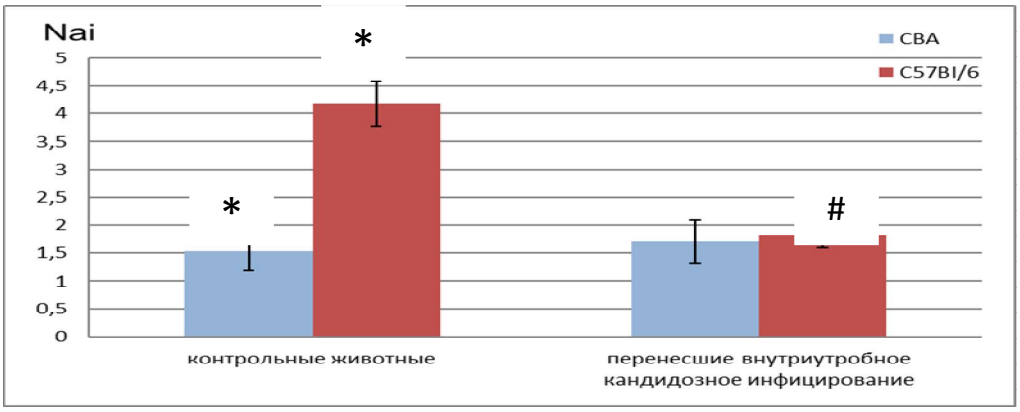
Примечание: * – достоверные межлинейные различия средних величин соответствующих параметров ($p < 0,05$). # – достоверные различия между средними величинами, соответствующих параметров, у мышей в опытной группе и в группе контроля ($p < 0,05$).

Рисунок 39 – Поверхностная плотность (Sv, мкм^2/мкм^3) ГЭПС в КК у новорожденных мышей линий C57Bl/6 и CBA, внутриутробно инфицированных *C. albicans*



Примечание: * – достоверные межлинейные различия средних величин соответствующих параметров ($p < 0,05$). # – достоверные различия между средними величинами, соответствующих параметров, у мышей в опытной группе и в группе контроля ($p < 0,05$).

Рисунок 40 – Соотношение показателей величин поверхностной (Sv) и объемной (Vv) плотностей ГЭПС в КК новорожденных мышей линий C57Bl/6 и CBA, внутриутробно инфицированных *C. albicans*



Примечание: * – достоверные межлинейные различия средних величин соответствующих параметров ($p < 0,05$). # – достоверные различия между средними величинами, соответствующих параметров, у мышей в опытной группе и в группе контроля ($p < 0,05$).

Рисунок 41 – Численная плотность (Na_i) прикрепленных рибосом (в тестовой площади) ГЭПС в КК у новорожденных мышей линий C57Bl/6 и CBA, внутриутробно инфицированных *C. albicans*

Внутриутробное инфицирование *C. albicans* животных отразилось и на вакуолярном аппарате КК у новорожденных мышей обеих линий. По сравнению с показателями контрольных животных, у мышей, перенесших ВКИ, наблюдали уменьшение величин, характеризующих первичные лизосомы (Vv), увеличение вторичных лизосом (фаголизосом, Vv), в том числе с персистирующими элементами *C. albicans*. Степень деградация содержимого фаголизосом КК варьировала у мышей разных линий, от минимальных изменений изолированных в них структур (преимущественно у мышей линии C57Bl/6) почти до полного их разрушения (преимущественно у мышей линии СВА) (рисунок 42).

Это может свидетельствовать о функциональной «неполноценности» лизосомального аппарата фагоцитов (моноцитов / макрофагов, клеток Купфера) у мышей линии C57Bl/6, что может проявиться снижением их биоцидной способности, длительной персистенцией возбудителя в вакуолярно-лизосомальном аппарате клеток и, в конечном итоге, может приводить к распространению инфекции.

У мышей обеих линий, перенесших ВКИ, величина объемной плотности (Vv) первичных лизосом в КК была меньше величины аналогичного показателя у животных соответствующих контрольных групп: у мышей линии СВА – в 10,18, C57Bl/6 – в 2,69 раз (рисунок 43; см. приложение В таблица В.2).

Межлинейных различий по величине численной (Na_i) плотности первичных лизосом в сравниваемых группах мышей, внутриутробно инфицированных C. *albicans,* выявлено не было (см. приложение В таблица В.2). Объемная плотность (Vv) первичных лизосом у мышей линии C57Bl/6, подвергнутых ВКИ, была больше величины соответствующего показателя у мышей линии СВА, также внутриутробно инфицированных C. *albicans,* в 5,35 раза (рисунок 43; см. приложение В таблица В.2).

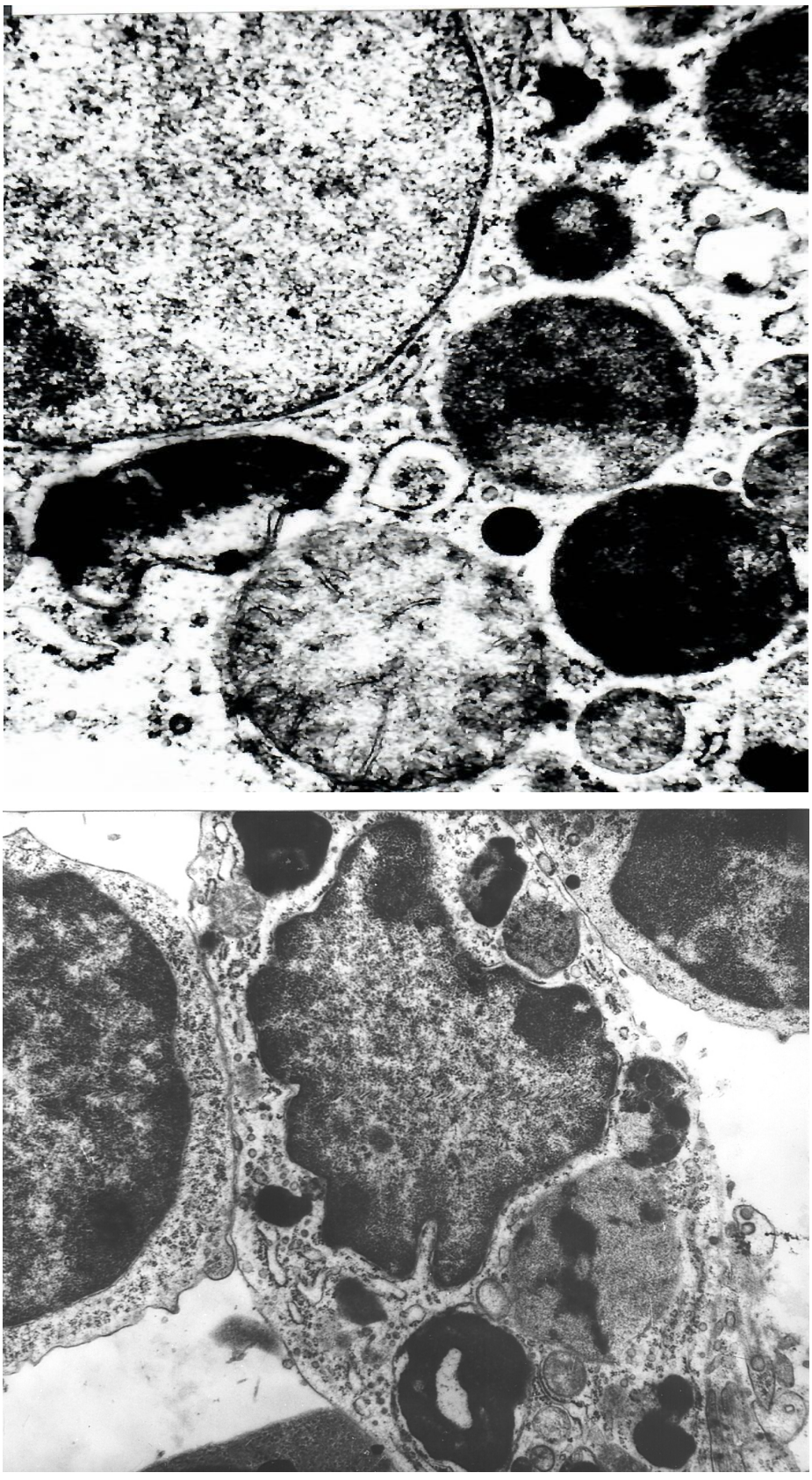
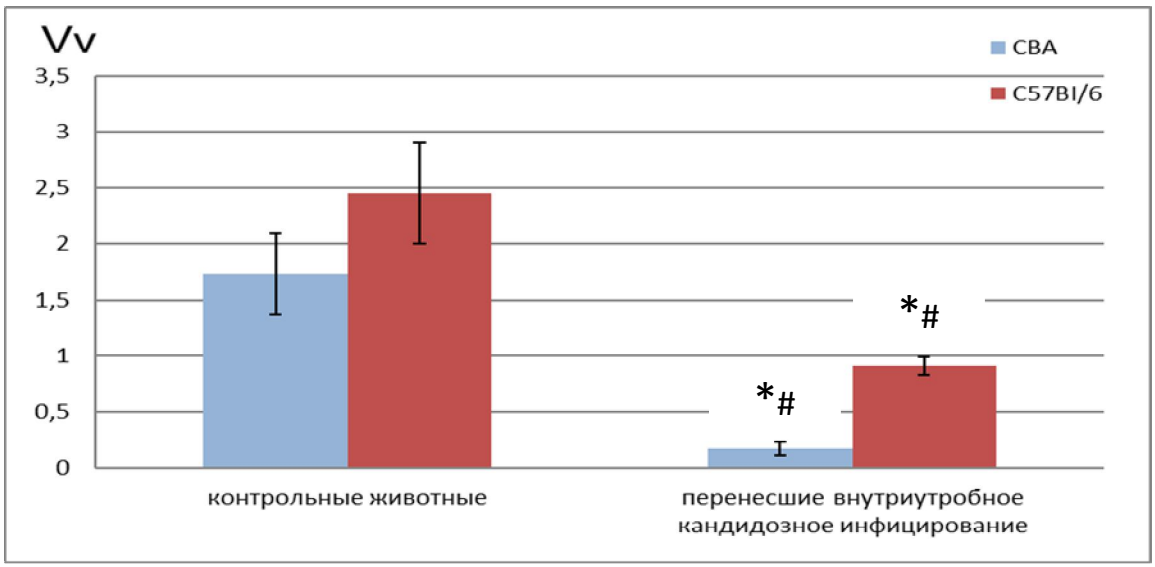


Рисунок 42 – Фаголизосомы в КК у новорожденных мышей линии С57В1/6, внутриутробно инфицированнх *C. albicans*. Электронограмма, ув. × 5600

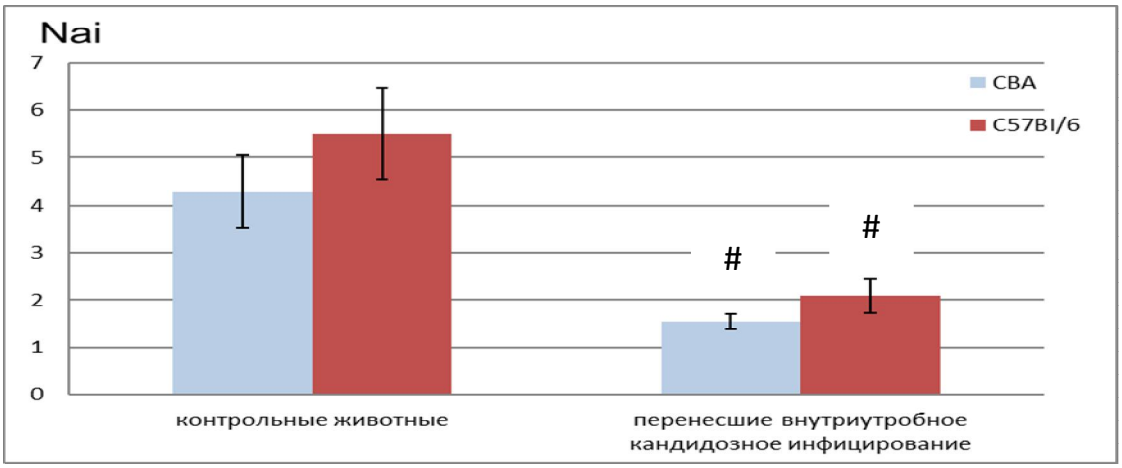


Примечание: * – достоверные межлинейные различия средних величин соответствующих параметров ($p < 0,05$). # – достоверные различия между средними величинами, соответствующих параметров, у мышей в опытной группе и в группе контроля ($p < 0,05$).

Рисунок 43 – Объемная плотность (Vv, %) первичных лизосом в КК у новорожденных мышей линий C57B1/6 и CBA, внутриутробно инфицированных *C. albicans*

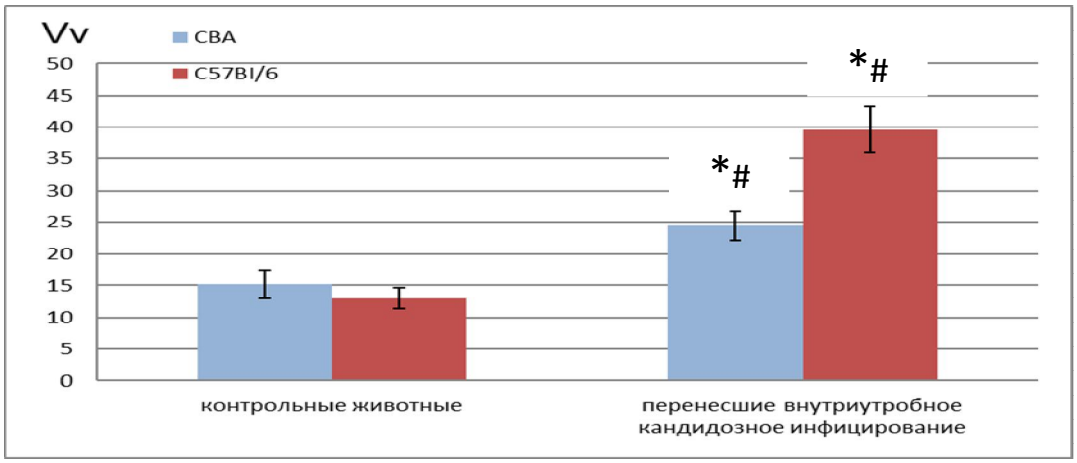
Величины численной плотности (Na_i) вторичных лизосом (фаголизосом) КК были меньшими у мышей линии CBA в 2,78 раза, C57Bl/6 – в 2,63 раза в сравнении с аналогичными показателями у мышей контрольных групп (рисунок 44). Напротив, величина объемной плотности (Vv) вторичных лизосом (фаголизосом) в КК у мышей линии C57Bl/6, внутриутробно инфицированных *C. albicans,* была больше, чем у мышей контрольной группы в 3,04 раза, у мышей линии CBA – 1,6 раза (рисунок 45; см. приложение В таблица В.2).

Выявлены межлинейные различия по приросту фаголизосом в КК у мышей, внутриутробно инфицированных *C. albicans*. Объемная плотность (Vv) фаголизосом в КК была большей у мышей линии C57Bl/6 – в 1,62 раза в сравнении с величиной аналогичного показателя у мышей линии CBA (рисунок 45; см. приложение В таблица В.2).



Примечание: # – достоверные различия между средними величинами, соответствующих параметров, у мышей в опытной группе и в группе контроля ($p < 0,05$).

Рисунок 44 – Численная плотность (Na_i) вторичных лизосом (фаголизосом) в КК у новорожденных мышей линий C57B1/6 и CBA, внутриутробно инфицированных *C. albicans*



Примечание: * – достоверные межлинейные различия средних величин соответствующих параметров ($p < 0,05$). # – достоверные различия между средними величинами, соответствующих параметров, у мышей в опытной группе и в группе контроля ($p < 0,05$).

Рисунок 45 – Объемная плотность (Vv, %) вторичных лизосом (фаголизосом) в КК у новорожденных мышей линий C57B1/6 и CBA, внутриутробно инфицированных *C. albicans*

Таким образом, несмотря на сходство общих реакций в КК у мышей линий СВА и С57Bl/6 при ВКИ, существуют отличия, выраженность которых определяется особенностями линий. У новорожденных мышей линии С57Bl/6, подвергнутых ВКИ, характерно формирование катаболической направленности обменных процессов в КК. Об этом свидетельствуют уменьшение объема мембран цитоплазматических органелл, прикрепленных к мембранам ГЭПС рибосом. По-видимому, у мышей данной линии, активация КК сменяется в условиях ВКИ, в конечном счете, их морфофункциональным истощением, что и указывает на «катаболическую» направленность обменных процессов.

Значительный прирост вакуолярного аппарата КК происходил за счет величин (Vv) вторичных лизосом (фаголизосом) у мышей обеих линий. Прирост фаголизосом (Vv) у мышей, подвергнутых ВКИ, мог быть обусловлен отбором и уничтожением измененных и/или поврежденных клеточных компонентов и элементов гриба *C. albicans*, как результат активации макрофагов, характерной для острого стресса [143].

У мышей линии С57Bl/6, перенесших ВКИ, по сравнению с мышами линии СВА, наблюдали большие размеры вторичных лизосом (фаголизосом, Vv). Более значимое увеличение объемной плотности (Vv) фагосом у С57Bl/6, видимо, связано с их более медленным включением в фаголизосомы, но не с формированием новых, т. к., имело место уменьшение объемной плотности (Vv) ГЭПС и численной плотности (Na_i) вторичных лизосом (фаголизосом). Можно предполагать и изменение синтеза и секреции лизосомальных ферментов, в том числе и таких протеаз как MMPs и их TIMPs, в условиях патологии, поскольку численная плотность рибосом у мышей линии С57Bl/6 была сниженной.

Это может обусловить длительную персистенцию живого возбудителя в вакуолярном аппарате КК и возможность генерализации инфекционного процесса [86]. Вероятно, у мышей линии С57Bl/6 имеет место несостоятельность завершенности фагоцитоза, что обусловило более значимое увеличение объемной плотности (Vv) фагосом в КК при внутриутробном инфицировании *C. albicans*.

Нарушение функций лизосом могло сопровождаться лабилизацией их мембран с увеличением уровня активности лизосомальных ферментовв цитоплазме [143]. Это могло способствовать появлению некротических изменений в паренхиме печени у мышей линии С57Bl/6,наблюдаемых Надеевым А. П. с соавторами [86].

С другой стороны, исходя из данных литературы, продукты лизосомального протеолиза при дефиците источников энергии могут быть использованы для энергетических и пластических потребностей клеток, в этом выражается сущность «реконструктивной» функции лизосом [143]. В этой связи, можно предположить, что КК могут создавать условия, с одной стороны, для эффективной противоинфекционной защиты за счет элиминации возбудителя в фаголизосомах (что более вероятно для мышей линии СВА), с другой стороны – нести значительный гидролитический потенциал, способный при действии определенных тригерных механизмов, привести к повреждению клеток печени, как, например, у мышей линии С57Bl/6 [143].

Таким образом, у мышей линии С57Bl/6 влияние инфекционного фактора, *C. albicans,* перенесенного антенатально, сопровождается комплексом ультраструктурных изменений в КК, которые могут свидетельствовать об усилении процессов эндоцитоза, возможно, угнетении синтеза регуляторных протеинов, энергообеспечения. У мышей линии СВА, подвергнутых ВКИ, активация фагоцитоза не сопровождалась гипоплазией энергопродуцирующего (соотношение показателей величин поверхностной (Sv) и объемной (Vv) плотностей митохондрий) и белоксинтезирующего (соотношение показателей величин поверхностной (Sv) и объемной (Vv) плотностей и (Na_i) прикрепленных рибосом (в тестовой площади) гранулярной ЭПС) аппаратов в КК.

3.3.2 Экспрессия MMP-9 и TIMP-1 непаренхиматозными клетками печени у новорожденных мышей линий СВА и С57Bl/6, внутриутробно инфицированных *C. albicans*

При микроскопическом исследовании органов новорожденных мышей, внутриутробно инфицированных *C. albicans,* выявляли дрожжевые клетки и мицелий С. *albicans* печени (рисунок 46), легких (рисунок 47).

В печени новорожденных мышей обеих линий, внутриутробно инфицированных *C. albicans,* наблюдали неравномерное полнокровие сосудов, гепатоциты находились в состоянии крупно-, средневакуольной дистрофии, с участками – баллонной дистрофии; обнаруживали очаги микронекрозов, явления холестаза (рисунок 48).

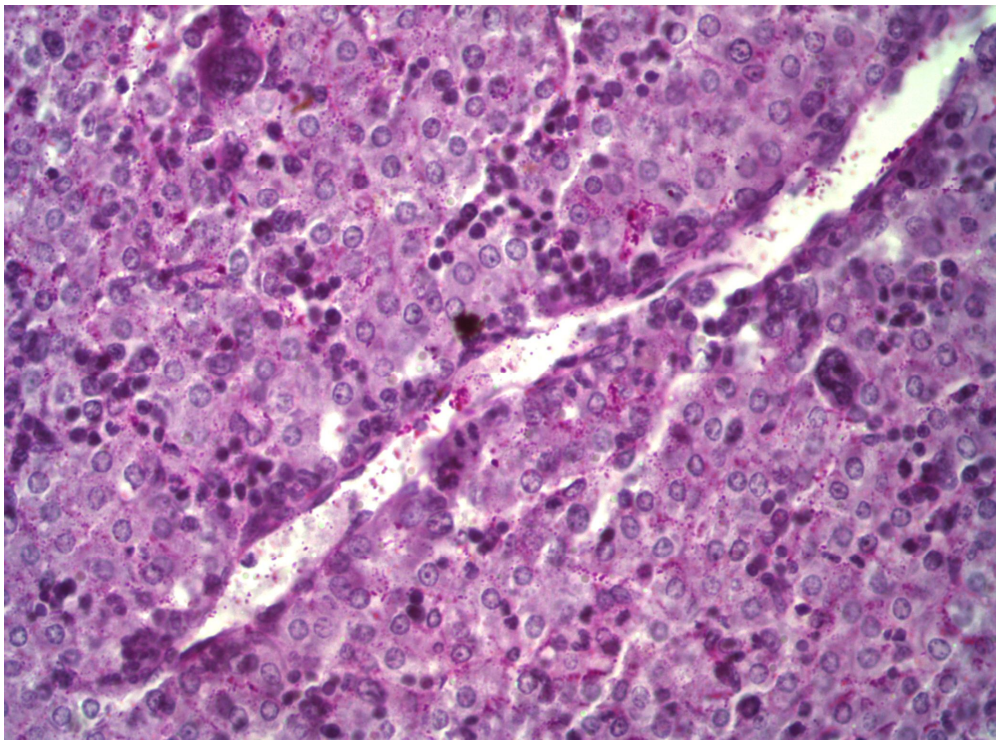


Рисунок 46 – Дрожжевые клетки и мицелий *C. albicans* в печени новорожденной мыши линии СВА, внутриутробно инфицированной. Окраска по Шабадашу. Ув. × 200

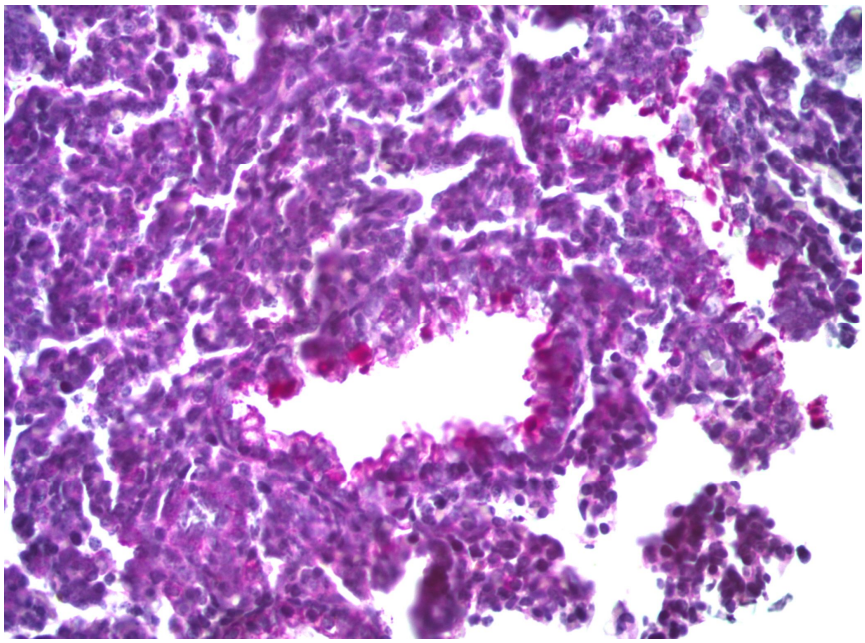


Рисунок 47 – Дрожжевые клетки и мицелий *C. albicans* в легких новорожденной мыши линии C57B1/6, внутриутробно инфицированной. Окраска по Шабадашу. Ув. × 200

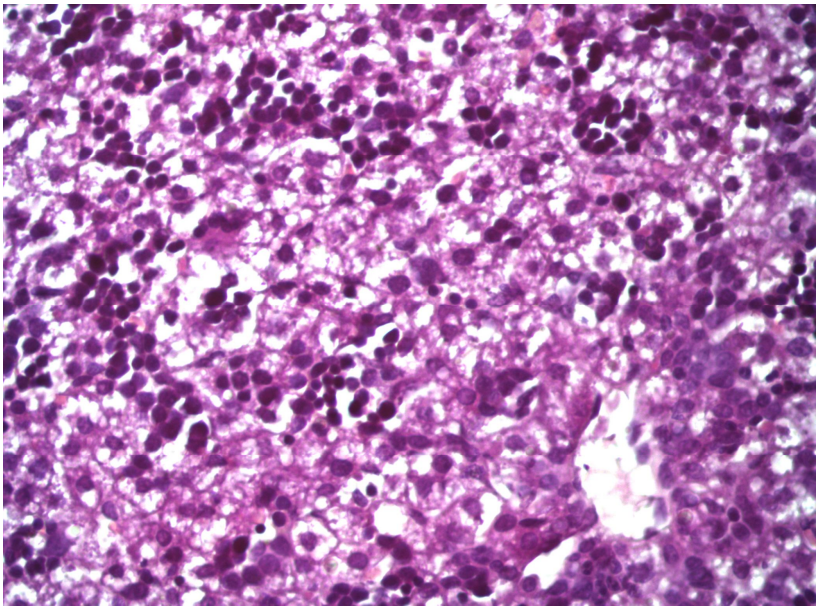
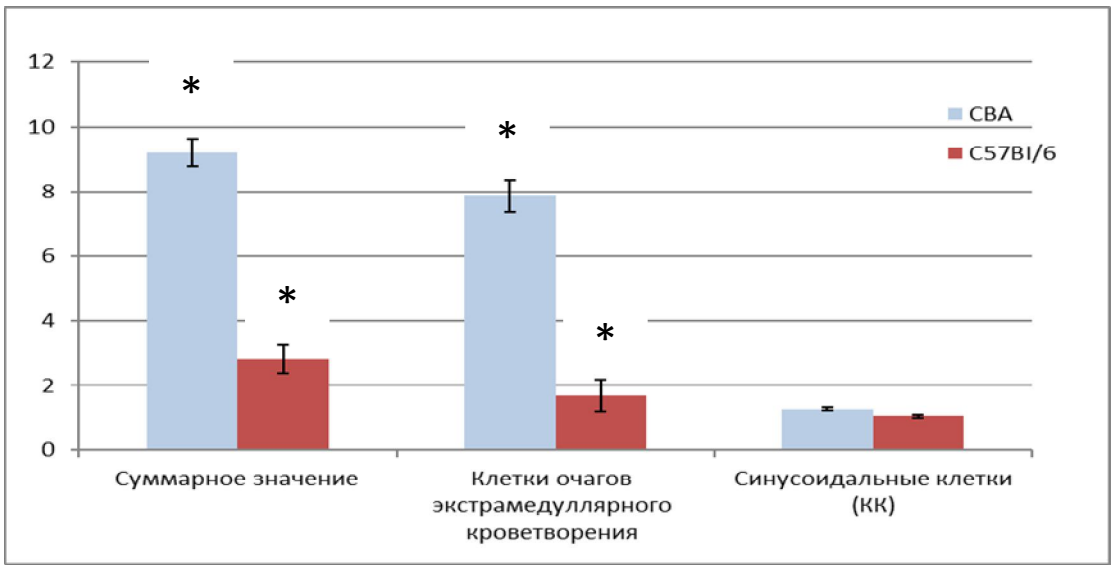


Рисунок 48 – Печень новорожденной мыши линии C57B1/6, внутриутробно инфицированной *C. albicans*: дистрофические изменения в гепатоцитах, очаги микронекрозов, многочисленные очаги экстрамедуллярного кроветворения. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. × 200

При иммуногистохимическом исследовании цитоплазматической экспрессии металлопротеиназы 9 (ММР-9) и ее тканевого ингибитора (TIMP-1) клетками печени у мышей, внутриутробно инфицированных *C. albicans*, было обнаружено большее количество клеток, экспрессирующих ММР-9 и TIMP-1 в печени мышей линии СВА, подвергнутых ВКИ, меньшее количество клеток, экспрессирующих ММР-9 и TIMP-1 наблюдали у мышей линии С57В1/6, так же подвергнутых ВКИ.

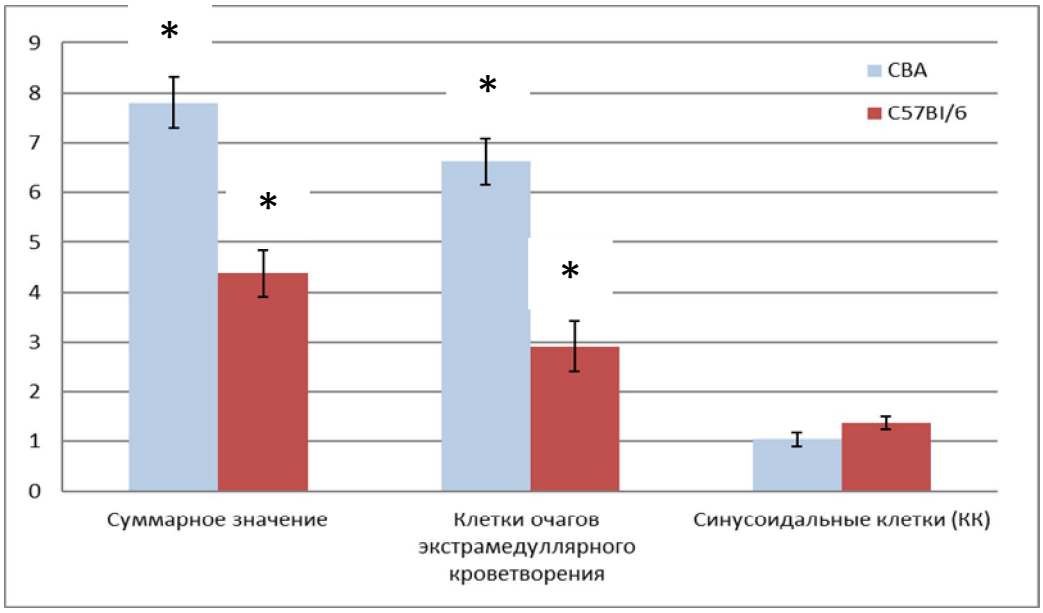
У мышей линии СВА, перенесших ВКИ, суммарное (общее) количество клеток (экстрамедуллярного кроветворения и синусоидальных), экспрессирующих ММР-9 в 3,29 раза превышало аналогичный показатель у мышей линии С57Bl/6, перенесших ВКИ (рисунок 49); а суммарное количество клеток, экспрессирующих TIMP-1 – в 1,79 раза (рисунок 50; см. приложение В таблица В.3). Как результат высокой экспрессии ММР-9 непаренхиматозными клетками печени и менее интенсивной экспрессии TIMP-1 у мышей линии СВА, подвергнутых ВКИ, соотношение количества непаренхиматозных клеток, экспрессирующих ММР-9 / TIMP-1 было > 1,0, при этом данный показатель (ММР-9 / TIMP-1) у мышей линии С57Bl/6, внутриутробно инфицированных *C. albicans* был меньше «1,0» (рисунок 51; см. приложение В таблица В.3).

Таким образом, мыши линий СВА, подвергнутые ВКИ, имели большее суммарное количество непаренхиматозных клеток, экспрессирующих ММР-9 и отставание в числе клеток, экспрессирующих TIMP-1 (ММР-9 / TIMP-1 > 1,0), что, вероятно, отразилось на высокой эффективности (биоцидности) фагоцитоза *C. alblcans* макрофагами у мышей этой линии (рисунки 49, 50, 51; см. приложение В таблица В.3).



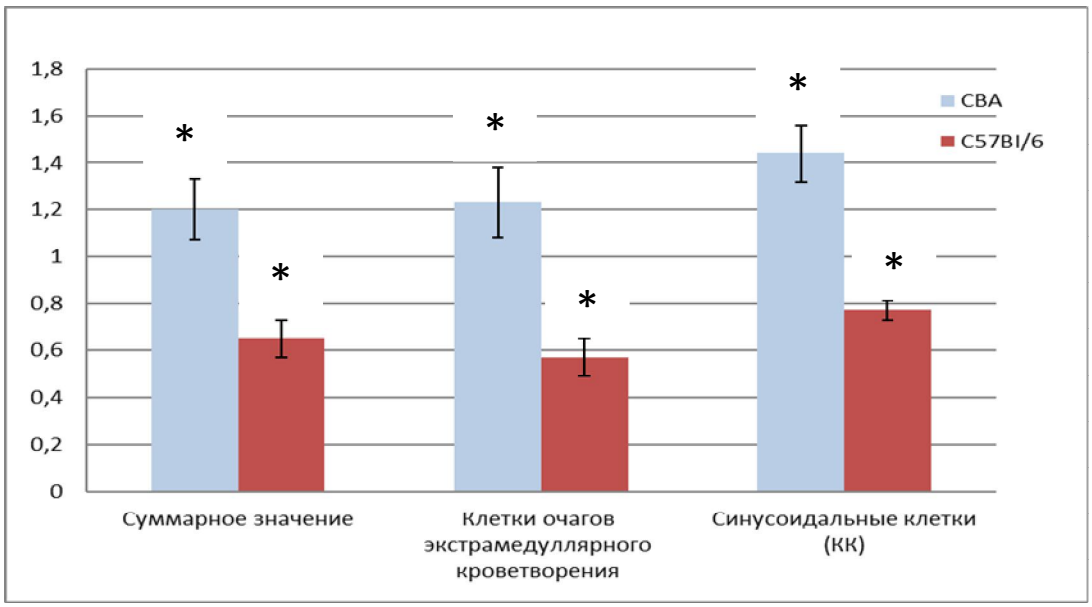
Примечание: * – достоверные межлинейные различия средних величин соответствующих параметров, $p < 0,05$.

Рисунок 49 – Количество клеток (%), экспрессирующих MMP-9 в печени мышей линий CBA и C57Bl/6, внутриутробно инфицированных *C. albicans*



Примечание: * – достоверные межлинейные различия средних величин соответствующих параметров, $p < 0,05$.

Рисунок 50 – Количество клеток (%), экспрессирующих TIMP-1 впечени мышей линий CBA и C57Bl/6, внутриутробно инфицированных *C. albicans*



Примечание: * – достоверные межлинейные различия средних величин соответствующих параметров, $p < 0,05$.

Рисунок 51 – Соотношение количества клеток (%), экспрессирующих MMP-9 и TIMP-1 в печени мышей линий CBA и C57Bl/6, внутриутробно инфицированных *C. albicans*

Что касается отдельных популяций непаренхиматозных клеток печени наблюдали ту же тенденцию: у мышей линий CBA, подвергнутых ВКИ, количество клеток (%) очагов экстрамедулярного кроветворения, экспрессирующих MMP-9, превышало таковое количество уноворожденных мышей линии C57Bl/6 в 4,01 раза (рисунок 49), экспрессирующих TIMP-1 – в 2,27 раза (рисунок 50); количество синусоидальных клеток (%), экспрессирующих MMP-9, превышало таковое количество уноворожденных мышей линии C57Bl/6 в 1,2 раза (рисунок 49), экспрессирующих TIMP-1 – значимо не отличались (рисунок 50; см. приложение В таблица В.3).

Полученные данные позволяют объяснить изменения в паренхиме печени у мышей линий CBA и C57Bl/6 при данной патологии [86]. Ранее Надеевым А.П. с соавторами [86] были выявлены значительные деструктивные изменения в паренхиме печени новорожденных мышат линий CBA и C57Bl/6, подвергнутых ВКИ, более выраженные у мышей линии C57B1/6. Процессы репаративной

регенерации паренхимы печени у мышей линии C57Bl/6, перенесших хроническую внутриутробную гипоксию, были более низкими, чем у мышей линии CBA и не соответствовали масштабам деструктивных изменений в печени [86].

Деструктивные явления, наблюдаемые в печени у мышей, перенесших ВКИ, могут быть обусловлены токсическим действием как самого гриба, *C. albicans,* так и его метаболитов [119], в основе которых может лежать активация фосфолипазы A_2 и модификация фосфолипидной матрицы [44], изменения цитокинового профиля и развитием гипоксии вследствие распространенных деструктивных изменений сосудов и гемоциркуляторных нарушений, развившихся в результате воздействия литических ферментов возбудителя на эндотелий сосудов [57].

Процесс активации КК зависит от состояния «цитокиновой сети», в которой часто меняющиеся сигналы носят сложный характер из-за большого разнообразия цитокиновых рецепторов и из-за того, что каждый цитокин может активировать или подавлять несколько процессов, включая свой собственный синтез и синтез других цитокинов [90; 121]. В настоящее время признано, что КК способны регулировать дифференцировку клеток печени при ее повреждении [82; 149; 210]. Кроме того, фагоцитируя клетки *C. albicans,* КК могут усиливать деструктивные процессы в паренхиме печени [86; 208].

Проведенное исследование позволяет сделать вывод, что максимальное напряжение адаптационно-приспособительных реакций отмечается в печени у мышей линии CBA, тогда как у мышей линии C57Bl/6 они истощены, что, вероятно, находит отражение в снижении масштабов регенерации у мышей линии C57Bll/6 [86]. Считается, что подавление регенерации печени клетками Купфера происходит за счет синтезируемого ими IL-18 [250; 265].

Полученные данные служат еще одним обоснованием необходимости учета генетических индивидуальных особенностей реагирования плода и новорожденных на внутриутробное инфицирование и может быть положено в основу методических подходов для прогнозирования индивидуальных рисков патологий у детей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что ультраструктурная организация клеток Купфера у новорожденных мышей линий С57В1/6 и СВА, выношенных в физиологических условиях отлична: для однодневных мышей линии С57В1/6 в отличие от мышей линии СВА, характерны более развитая сеть мембран, формирующих ГЭПС (большие величины показателей объемной (Vv) и поверхностной (Sv) плотностей ГЭПС, количества (Na_i) прикрепленных рибосом) и митохондрий (большие значения соотношения величин показателей S/Vv).

Анализ данных исследований выявил неблагоприятное влияние перенесенной внутриутробной патологии: ХВУГ и ВКИ, на ультраструктуру КК у новорожденных мышей линий СВА и С57Bl/6. Об этом свидетельствует ряд морфометрических параметров, характеризующих субклеточную организацию КК.

Оба неблагоприятных фактора (ХВУГ, ВКИ) приводят как к однозначным (неспецифическим), так и зависящим от повреждающего фактора (специфическим), но в большей степени от генетического фактора, изменениям.

Общее сходство в реакциях (неспецифические реакции) субклеточных структур КК и экспрессии MMP-9 / TIMP-1 непаренхиматозными клетками печени на изучаемые антенатальные повреждающие факторы у однодневных мышат линий СВА и С57Bl/6, заключалось в изменении соотношения объема различных структурно-функциональных типов лизосом – уменьшение объема (Vv) первичных лизосом и увеличение вторичных лизосом (Vv, фаголизосом); появлении экспрессии MMP-9 и TIMP-1 в непаренхиматозных клетках печени (синусоидальных и клетках очагов кроветворения).

Особенности реагирования, зависимые от патологического фактора – хронической внутриутробной гипоксии или внутриутробного кандидозного инфицирования. Изменения ультраструктурной организации КК в условиях внутриутробной патологии касались прироста вакуолярного аппарата и объема цитоплазмы. Прирост (Vv) вторичных лизосом (фаголизосом) в КК был более

значимым у мышей, перенесших ВКИ, по сравнению с мышами, перенесшими ХВУГ. В фаголизосомах КК у новорожденных мышей, перенесших ХВУГ, чаще определяли эритроциты, остатки цитоплазматических структур, вероятно, погибших гепатоцитов, у новорожденных мышей, перенесших ВКИ – элементы гриба *C. albicans* и недифференцированный материал. Возрастание объема цитоплазмы КК имело место только у новорожденых мышей, перенесших ХВУГ.

Особенности реагирования, зависимые от линии мышей – СВА и С57Bl/6. У мышей линии С57Bl/6, подвергнутых как ХВУГ, так и ВКИ, выявили гипоплазию белково-синтетического и энергопродуцирующего аппаратов в КК, что проявилось уменьшением величин морфометрических показателей, характеризующих ГЭПС (Sv, Sv/Vv, Na_i прикрепленных рибосом) и митохондрии (Sv/Vv).

Так, в митохондриях КК у мышей линии С57Bl/6, перенесших внутриутробную патологию, отмечали уменьшение объема мембран (Sv/Vv), что понижает возможности транспорта энергетических субстратов в КК.

Наблюдаемые ультраструктурные изменения в ГЭПС КК у новорожденных мышат линий С57Bl/6 под влиянием перенесенной внутриутробной патологии, по-видимому, могли привести к нарушению микросомального окисления, синтетических и транспортных процессов в клетке, изменению обмена ионов внутри клетки (между ее компартментами) и, в конечном итоге, изменению регуляторной ее роли.

По-видимому, мыши линий СВА и С57Bl/6 КК, обладающие исходно различной морфофункциональной активностью, различными обменными (развитость сети мембран, формирующих ГЭПС, и обилие прикрепленных к ним рибосом) и энергетическими (развитость крист митохондрий) процессами, способны по разному за счет медиаторных передатчиков выполнять адаптационную функцию (по критерию неспецифической резистентности) после, перенесенной внутриутробной патологии [149; 245].

Синусоидальные клетки и клетки очагов кроветворения у новорожденных мышей линии СВА, перенесших антенатально хроническую гипоксию или

инфицирование *C. albicans*, сохранили свою «положительную» регуляторную роль и в отношении системы «протеолиз / антипротеолиз», тогда как синусоидальные клетки и клетки очагов кроветворения у мышей линии С57В1/6 утратили способность контролировать разрушающий протеолитический потенциал.

Все это нашло свое отражение в особенностях стуктурной организации паренхимы печени у новорожденных мышей линий С57Bl/6 и СВА, после перенесенной внутриутробной патологии. Надеев А. П. и соавторы [86] отмечали значительные деструктивные изменения в паренхиме печени однодневных мышат обеих линий (СВА и С57Bl/6), более выраженные у мышей линии С57Bl/6. Процессы репаративной регенерации (гепатоциты в состоянии митоза, двуядерные гепатоциты) паренхимы печени у мышей линии С57Bl/6, перенесших ХВУГ или ВКИ, были более низкими, чем у мышей линии СВА и не соответствовали масштабам деструктивных изменений в печени.

Таким образом, адаптивные возможности клетки Купфера в печени у новорожденных мышей линий С57BlL/6 и СВА после перенесенной внутриутробной патологии (хронической внутриутробной гипоксии или внутриутробного кандидозного инфицирования) также зависят от линии мышей и демонстрируют состояние «дезадаптации» у мышей линии С57Bl/6, у мышей линии СВА – состояние «компенсации». Максимальное напряжение адаптационно - приспособительных реакций отмечено в печени новорожденных мышей линии СВА, перенесших внутриутробную патологию, тогда как у мышей линии С57BI/6 они истощены.

ВЫВОДЫ

1. В ультраструктурной организации клетки Купфера в условиях нормы у новорожденных мышей линий С57В1/6 и СВА выявили различия: для клетки Купфера новорожденных мышей линии С57В1/6 в отличие от новорожденных мышей линии СВА, характерны более развитая сеть мембран (Sv, Sv/Vv) гранулярная эндоплазатическая сеть, митохондрий, большее количество прикрепленных рибосом.

2. Хроническая внутриутробная гипоксия у новорожденных мышей линии С57Bl/6 привела к снижению величин показателей ультраструктурной организации клетки Купфера, характеризующих белково-синтетический (уменьшение объема мембран гранулярной эндоплазатической сети и количества прикрепленных рибосом) и энергетический (уменьшение объема мембран митохондрии) аппараты; уменьшению объема (Vv) первичных лизосом и увеличению объема (Vv) фагосом.

3. При хронической внутриутробной гипоксии у новорожденных мышей линии С57В1/6, в отличие от мышей линии СВА, регистрировали меньшее количество непаренхиматозных клеток печени (синусоидальных и клеток очагов экстрамедуллярного кроветворения), экспрессирующих MMP-9 и TIMP-1, с преобладанием экспрессии MMP-9 над экспрессией TIMP-1 (соотношение экспрессий MMP-9 / TIMP-1 > 1,0); у мышей линии СВА соотношение экспрессий MMP-9 / TIMP-1 близко к 1.

4. При внутриутробном кандидозном инфицировании в клетках Купфера у новорожденных мышей линии С57Bl/6 выявили комплекс ультраструктурных изменений, которые свидетельствуют об усилении процессов эндоцитоза (увеличение объема (Vv) фаголизосом), гипотрофии белково-синтетического (меньшие величины объемной (Vv) и поверхностной (Sv) плотностей гранулярной эндоплазатической сети, меньшее количество (Na_i) прикрепленных рибосом) и энергообразующего (меньшее соотношение величин показателей Sv/Vv) аппаратов клетки. У новорожденных мышей линии СВА, перенесших

внутриутробное кандидозное инфицирование, усиление эндоцитоза сопровождалась уменьшением объемной (Vv) плотности гранулярной эндоплазатической сети.

5. У новорожденных мышей обеих линий, перенесших внутриутробное кандидозное инфицирование, наблюдали дисбаланс в экспрессии MMP-9 / TIMP-1 непаренхиматозными клетками печени: у мышей линии C57B1/6 преобладала экспрессия TIMP-1 над экспрессией MMP-9 (соотношение экспрессии MMP-9 / TIMP-1 < 1,0). у мышей линии CBA преобладала экспрессия MMP-9 (соотношение экспрессии MMP-9 / TIMP-1 > 1,0).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Полученные данные могут послужить обоснованием необходимости учета индивидуальных особенностей плода и новорожденных при внутриутробном инфицировании и гипоксии.

2. Определение изменений в системе протеазы / антипротеазы (металлопротеиназы / тканевые ингибиторы металлопротеиназ) может быть положено в основу методических подходов для прогнозирования индивидуальных рисков повреждения внутренних органов у новорожденных детей.

3. Данные о роли матриксных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов в патогенезе позволяет обосновать внедрение их ингибиторов в качестве патогенетически обоснованных элементов терапии.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ВКИ – внутриутробное кандидозное инфицирование

ГЭПС – гранулярная эндоплазатическая сеть

КК – клетка Купфера

ММР-9 – матриксная металлопротеиназа 9

MMPs – матриксные металлопротеиназы

TIMP-1 – тканевой ингибитор матриксных металлопротеиназ 1-го типа

TIMPs – тканевые ингибиторы матриксных металлопротеиназ

ХВУГ – хроническая внутриутробная гипоксия

ЦНС – центральная нервная система

Vv – объемная плотность структур

Sv – поверхностная плотность структур в объеме

Na_i – численная плотность профилей структур в площади среза

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Авербах, М. М. Иммунорегуляции, иммунодиагностики и иммунокоррекции (экспериментальные модели) морфологическая характеристика хронического гранулематозного воспаления в ткани легких инбредных мышей, вызванного M.Avium / М. М. Авербах, Е. В. Кондратьева, В. В. Мищенко // Медицинская иммунология. – 2006. – Т 8, № 2–3. – С. 113-116.

2. Автандилов, Г. Г. Медицинская морфометрия. Руководство / Г. Г. Автандилов. – М. : Медицина, 1990. – 384 с.

3. Андреев, А. В. Перинатальная гипоксия как причина патологических изменений надпочечников плодов и новорожденных / А. В. Андреев, Г. И. Губина-Вакулик // Международный медицинский журнал. – 2013. – № 3. – С. 65-69.

4. Ахмадеева, Э. Н. Особенности колонизации новорожденных грибами Candida в условиях перинатального центра / Э. Н. Ахмадеева, В. Р. Амирова, З. Г. Габидуллин // Педиатрия. – 2000. – № 3. – С. 17-19.

5. Ашрафов Р. А. Динамика ультраструктурной организации клеток печени при экспериментальном перитоните / Р. А. Ашрафов**,** А. Э. Лычкова // Экспериментальная гастроэнтерология. – 2013. – Т. 12. – С. 75-78.

6. Байбурина, Г. А**.** Влияние устойчивости к гипоксии на латентные переменные динамики свободнорадикального окисления после перенесенной аноксии / Г. А. Байбурина, Е. А. Нургалеева, С. А. Башкатов // Астраханский медицинский журнал. – 2016. – № 4. – С. 72-81.

7. Балдина, Н. Ю. Геморрагическая болезнь новорожденных – нозология с проблемами в диагностике и лечении / Н. Ю. Балдина, И. И. Спичак // Педиатрический вестник Южного Урала. – 2014. – № 1–2. – С. 83-90.

8. Баринова, И. В. Морфология плодовых потерь при антенатальной гипоксии / И. В. Баринова // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2015. – № 2. – С. 14-18.

9. Баяндина, С. М. Характеристика внутриутробных инфекций / С. М. Баяндина // Новые задачи современной медицины : материалы междунар. науч. конф., 2-й (г. Санкт-Петербург, май 2013 г.). – СПб. : Реноме, 2013. – С. 87-88.

10. Белозерцева, Е. П. Конфаудинг-факторы антенатальной гибели плода / Е. П. Белозерцева, Г. Н. Буслаева // Дальневосточный медицинский журнал. – 2014. – № 4. – С. 50–52.

11. Бениова, С. Н. Клиническое значение определения матриксных металлопротеиназ у новорожденных с врожденной герпетической инфекцией / С. Н. Бениова, С. Ю. Фиголь, Е. В. Маркелова // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2016. – № 1. – С. 46-50.

12. Бениова, С. Н. Плазменные маркеры деградации экстрацеллюлярного матрикса при внутриутробной герпетической инфекции /С. Н. Бениова, С. Ю. Фиголь, О. А. Корнилова // Детские инфекции. – 2016. – № 4. – С. 27-30.

13. Бубнова, Н. И. Репродуктивные потери при декомпенсированной плацентарной недостаточности, вызванной инфекцией / Н. И. Бубнова, В. Л. Тютюнник, О. И. Михайлова // Акушерство и гинекология. – 2010. – № 4. – С. 55-58.

14. Васильева, Е. В. Влияние интраназального и внутрибрюшинного введений пептидов семакса и ноопепта на поведенческие характеристики мышей BALB/c / Е. В. Васильева, Р. М. Салимов, Г. И. Ковалёв // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2016 – № 2. – С. 31–36.

15. Влияние антенатальной гипоксии на некоторые показатели тканевого гомеостаза печени белых крыс / О. Г. Пинаева [и др.] // Бюлл. эксп. биол. и мед. – 2014. – Т. 157, № 3. – С. 301-304.

16. Влияние антенатальной гипоксии на тканевой гомеостаз миокарда белых крыс: ранние и отдаленные последствия / С. И. Зубенко [и др.] // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2014. – Т. 157, № 3. – С. 294-298.

17. Влияние мелатонина на показатели иммунной и нервной систем мышей линий СВА и С57BL/6J при нарушении светового режима / А. В. Шурлыгина [и др.] // Иммунология. – 2016. – Т. 37, № 2. – С. 68-75.

18. Влияние острой гипобарической гипоксии на репродуктивную функцию лабораторных крыс и мышей. Сообщение 1: Исследование последствий воздействия острой гипобарической гипоксии на стадии раннего органогенеза на жизнеспособность эмбрионов у самок крыс и мышей / Х. Х. Семенов [и др.] // Биомедицина. – 2012. – № 3. – С. 73–78.

19. Влияние хронической внутриутробной гипоксии на морфофункциональные особенности органов мочевыделительной системы плодов и новорожденных / М. С. Мирошниченко [и др.] // Морфология. – 2013. – Т. 7, № 2. – С. 57-60.

20. Ганусевич И. И. Роль матриксных металлопротеиназ (ММП) при злокачественных новообразованиях. Характеристика ММП, регуляция их активности, прогностическое значение / И. И. Ганусевич // Онкология. – 2010. – Т. 12, № 1 – С. 10-16.

21. Гипоксическое прекондиционирование, как новый подход к профилактике ишемических и реперфузионных повреждений головного мозга и сердца / Л. Н. Маслов [и др.] // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2011. – Т. 17, № 3. – С. 27-36.

22. Глуховец, Б. И. Восходящее инфицирование фетоплацентарной системы / Б. И. Глуховец, Н. Г. Глуховец – М. : МЕДпресс-информ, 2006. – 239 с.

23. Гольдберг, Е. Д. Показатели иммунитета у мышей разных линий / Е. Д. Гольдберг, Н. В. Масная, А. А. Чурин // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2005. – Т. 140, № 8. – С. 189-191.

24. Гржибовский, А. М. Внутриутробное программирование хронических заболеваний взрослых хронических заболеваний взрослых / А. М. Гржибовский, Л. О. Бигрен, Ю. Р. Теддер // Экология человека. – 2003. – № 5. – С. 14-22.

25. Даев, Е. В. Влияние стресса на хемосигнализацию у лабораторных мышей линии СВА и С57BL/6 / Е. В. Даев, Б. П. Суринов, А. В. Дукельская // Экологическая генетика. – 2007. – Т. 5, № 2. – С. 37–43.

26. Динамика морфофункциональных нарушений печени у детей, перенесших перинатальную гипоксию, на протяжении первого года жизни / С. Б. Бережанская [и др.] // Педиатрия. – 2013. – Т. 92, № 2. – С. 52-56.

27. Дубинина, Е. Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток (жизнь и смерь, созидание и разрушение). Физиологические и клинико-биохимические аспекты / Е. Е. Дубинина. – СПб. : Издательство медицинская пресса, 2006. – 400 с.

28. Дубровина, Н. И. Угашение условной реакции пассивного избегания у мышей разных линий / Н. И. Дубровина, Д. Р. Зиновьев, Д. В. Зиновьев // Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова. – 2010. –Т. 60, № 6. – С. 712-718.

29. Дуданова, О. П. Повреждение паренхимы и нарушение перфузии печени в прогрессировании неалкогольной жировой болезни печени / О. П. Дуданова, И. А. Белавина // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2014. – Т. 108, № 8. – С. 41-45.

30. Ельчанинов, А. В. Морфологическая характеристика репаративной регенерации фетальной печени крыс : дисс. … канд. мед. наук : 03.03.04 / А. В. Ельчанинов. – М., 2011. – 111 с.

31. Заднипряный, И. В. Морфофункциональные изменения при перинатальной гипоксии и возможные пути их коррекции / И. В. Заднипряный, Т. П. Сатаева // Таврический медико-биологический вестник. – 2013. – Т. 16, № 1. – С. 252-256.

32. Закономерности реакций кроветворной и лимфоидной тканей мышей разных линий при экспериментальных воздействиях / Е. Д. Гольдберг [и др.] // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2008. –№ 2 (прилож.). – С. 74-81.

33. Зарубина, И. В. Современные представления о патогенезе гипоксии и ее фармакологической коррекции / И. В. Зарубина // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2011. – Т. 9, № 3. – С. 31-48.

34. Значение матриксной металлопротеиназы-9 в диагностике фиброза печени у больных хроническими моно- и микст-вирусными гепатитами / В.А. Иванис [и др.] // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2012. – № 4. – С. 74-77.

35. Иванников, А. А. Морфологические особенности опухоли и матриксныеметаллопротеиназы в плазме крови больных раком желудка/ А. А. Иванников // Вопросы биологической медицинской и фармацевтической химии – 2015. – № 6. – С. 42-48.

36. Иванченко, М. В. Влияние внутриутробной гипоксии на гетерогенитет митохондрий и пути его реализации при альтерации желудочкового миокарда крыс / М. В. Иванченко, И. В. Твердохлеб // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2014. – Т. 52, № 4. – С. 101-106.

37. Изменение содержания матриксных металлопротеиназ и их тканевая экспрессия в атеросклеротических бляшках разных типов / А. М. Волков [и др.] // Кардиология. – 2018. – Т. 58, № 10. – С. 12-18.

38. Изменения прдукции матриксных металлопротеиназ и цитокинов при лечении рассеянного склероза у детей препаратами интерферона β / Л. А. Пак [и др.] // Российский педиатрический журнал. – 2014. – № 1. – С. 14-18.

39. Изучение влияния хронической гипоксии на течение беременности и развитие потомства в эксперименте / И. Ю. Карпова [и др.] // Медицинский альманах. – 2011. – Т. 19, № 6. – С. 55-57.

40. Иммуногистохимические особенности различных типов нестабильных атеросклеротических бляшках коронарных артерий / И. С. Мурашов [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2018. – Т. 166, № 7. – С. 14-19.

41. Иммуногистохимический анализ экспрессии матриксной металлопроте иназы-2 в миокарде в постинфарктный период/ Л. М. Непомнящих [и др.] //

Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2015. – Т. 159, № 4. – С. 504-10.

42. Инфицированность плаценты при невынашивании беременности / Н. М. Ивахнишина [и др.] // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2015. – Т. 56. – С. 88-93.

43. Исследование влияния липосом с декстразидом на экспрессию металлопротеиназ ММР-1 И ММР-9 макрофагами in vitro / Д. В. Нещадим [и др.] // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2016. – № 8–2. – С. 198-202.

44. Ишутина, Н. А. Роль нарушений состава фосфолипидов в патогенезе цитомегаловирусной инфекции в период гестации / Н. А. Ишутина // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2015. – Т. 103, № 3. – С. 52-55.

45. Кальпротектин и матриксные металлопротеиназы при язвенно-некротическом энтероколите у новорожденных детей / И. Н. Хворостов [и др.] // Российский педиатрический журнал. –2013. – № 6. – С. 37–44.

46. Карапетян, Т. Э. Значение оппортунистических инфекций влагалища в развитии внутриутробной инфекции плода и новорожденного (ретроспективное исследование) / Т. Э. Карапетян, А. Г. Антонов // Акушерство и гинекология. – М., 2012. – № 4. – С. 59-63.

47. Ким, Л. Б. Сопряженные с возрастом изменения в системе металлопротеиназы/тканевые ингибиторы металлопротеиназ и компонентов протеогликанов в органах мышей / Л. Б. Ким, В. А. Шкурупий, А. Н. Путятина // Бюл. эксперим. биологии и медицины – 2016. – № 1. – С. 40-45.

48. Клеточный состав и регуляторные функции стромы зародышевой печени / О. В. Паюшина [и др.] // Цитология. – 2012. – Т. 54, № 5. – С. 369-380.

49. Клинико-патогенетические особенности врождённых пороков сердца у новорождённых с внутриутробной инфекцией / С. Н. Бениова [и др.] // Казанский медицинский журнал. – 2017. – Том 98, № 2. – С. 81.

50. Концевая, Г. В. Влияние половых хемосигналов самок на мукозальный иммунитет легких у самцов мышей линий BALB/c и C57BL/6 / Г. В. Концевая,

Е. А. Литвинова, М. П. Мошкин // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2016. – Т. 20, № 5. – С. 704-707.

51. Кореновский, Ю. В. Матриксная металлопротеиназа-9, супероксиддисмутаза и перекисное окисление липидов у недоношенных новорожденных с перинатальной гипоксией / Ю. В. Кореновский, Е. А. Ельчанинова, Н. И. Фадеев // Бюллетень сибирской медицины. – 2011. – Т. 10, № 2. – С. 26-29.

52. Коржевский, Д. Э. Основы гистологической техники / Д. Э. Коржевский, А. В. Гиляров – СПб. : СпецЛит, 2010. – 96 с.

53. Корнеев, А. А. О формировании индивидуальной резистентности организма к острой гипоксической гипоксии в процессе онтогенеза / А. А. Корнеев // Патол. физиология и эксперим. терапия. – 1991. – № 1. – С. 41-44.

54. Косенкова, Е. Г. Критерии внутриутробного инфицирования новорождённого / Е. Г. Косенкова, И. М. Лысенко // Охрана материнства и детства. – 2014. – Т. 23, № 1. – С. 35-40.

55. Костюшко, А. В. Сравнительная характеристика цитокинового профиля при развитии экспериментальной пневмонии у мышей / А. В. Костюшко // Успехи современного естествознания. – 2007. – № 7. – С. 49-50.

56. Купша, Е. И. Морфологическая характеристика клеток Купфера при сочетанном поступлении в организм белых мышей ацетата свинца и эрбисола / Е. И. Купша, В. В. Бондаренко // Инновации в науке: сб. статей по матер. 57-й междунар. науч.-практ. конф. № 5(54). Часть I. – Новосибирск, 2016. – С. 180-184.

57. Кутепова, О. Л. Изменение парциального напряжения углекислого газа и его влияние на оксигенацию гемоглобина в эритроцитах крови беременных при цитомегаловирусной инфекции на разных сроках гестации / О. Л. Кутепова // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2015. – № 56. – С. 98-102.

58. Кутина, С. И. Резистентность печени к повреждению CCl_4 при стимуляции макрофагов препаратам и разных классов / С. И. Кутина, А. А. Зубахин // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2001. – № 6. – С. 620-622.

59. Лапаев, Э. В. О допустимых величинах скорости изменения барометрического давления / Э. В. Лапаев, Г. И. Тарасенко, В. Н. Чернуха // Воен.-мед.. журн. – 1981. – № 1. – С. 50-51.

60. Лесниченко, И. Ф. Матриксные металло-протеиназы: характеристика, роль в лейкозогенезе и прогностическое значение / И. Ф. Лесниченко, С. В. Грицаев., С. И. Капустин // Вопр. онкол. – 2011. – Т. 57. – № 3. – С. 286-294.

61. Лесниченко, И. Ф. Матриксные металлопротеиназы-2 и -9 в плазме аспиратов костного мозга больных острым миелоидным лейкозом / И. Ф. Лесниченко, С. В. Грицаев, И. И. Кострома // Бюл. СО РАМН. – 2014. – Т. 34. – № 6 .– С. 13-18.

62. Лилли, Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия : пер. с англ. / Р. Лили. М.: Мир, 1969. – 845 с.

63. Лукьянова, Л. Д. Влияние гипоксического прекондиционирования на свободно-радикальные процессы в тканях крыс с различной толерантностью к гипоксии. / Л. Д. Лукьянова, Ю. И. Кирова // Бюлл. эксперим. биологии и медицины. – 2011. – Т. 151, № 3. – С. 263-268.

64. Лукьянова, Л. Д. Функционально-метаболические особенности животных с различной индивидуальной резистентностью к гипоксии / Л. Д. Лукьянова // Проблемы гипоксии: молекулярные, физиологические и медицинские аспекты. – М.; Воронеж : Истоки, 2004. – С. 156-169.

65. Луценко, М. Т. Активность SH-групп в синцитиотрофобласте ворсинок хориона при цитомегаловирусной инфекции /М. Т. Луценко // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2015. – №: 56. – С. 94-97.

66. Луценко, М. Т. Газотранспортный обмен в периферической крови при общем охлаждении организма / М. Т. Луценко // Бюл. физиологии и патологии дыхания. – 2012. – Вып. 44. – С. 85-89.

67. Луценко, М. Т. Цитомегаловирусная инфекция / М. Т. Луценко // Бюл. физиологии и патологии дыхания. – 2012. – Вып. 44. – С. 131- 136.

68. Мазовка, К. Е. Активность протеаз при воспалительных и функциональных заболеваниях кишечника / К. Е. Мазовка, А. В. Ткачев //

Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Естественные науки.– 2014. – № 2. – С. 102–104.

69. Мазовка, К. Е. Современное представление и патогенез воспалительных заболеваний кишечника. Роль матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов / К. Е. Мазовка, А. В. Ткачев, Т. А. Девликамова // Научная мысль Кавказа. – 2014. – № 2. – С. 119–127.

70. Мазовка, К. Е. Экспрессия матриксной металлопротеиназы-9 и тканевого ингибитора матриксной металлопротеиназы-1 в слизистой оболочке кишечника у больных с воспалительными заболеваниями кишечника в зависимости от активности заболевания/ К. Е. Мазовка, А. В. Ткачев // Практическая медицина. – 2014. – № 1. – С. 53-56.

71. Майсурадзе, Л. В. Влияние бактериального вагиноза на течение беременности, состояние плода и новорожденного / Л. В. Майсурадзе, Ф. Ю. Магаева, Д. К. Алборов // Кубанский научный медицинский вестник. –2014. – Т. 148, № 6. – С. 58–62.

72. Макаренко, А. Н. Адаптация к гипоксии как защитный механизм при патологических состояниях / А. Н. Макаренко, Ю. К. Карандеева // Вісник проблем біології і медицини. – 2013. – Вып. 2 (100). – С. 27-32.

73. Малинина, Е. И. Роль внутриутробной гипоксии и матриксных металлопротеиназ 2, 9в формировании "гиперэхогенного внутрисердечного фокуса"/ Е. И. Малинина // Педиатрическая фармакология. – 2015. – Т. 12, № 2. – С. 220.

74. Матриксная металлопротеиназа-9 в плазме аспиратов костного мозга больных острым миелоидным лейкозом и миелодиспластическим синдромом / И. Ф. Лесниченко [и др.] // Вопросы онкологии. – 2016.– Т. 62, № 1. – С. 101-103.

75. Матриксные металлопротеиназы их взаимосвязь с системой цитокинов, диагностический и прогностический потенциал / Е. В. Маркелова [и др.] // Иммунопатология, аллергология, инфектология. – 2016. – № 2. – С. 11-22.

76. Матриксные металлопротеиназы как биомаркеры формирования бронхолегочной дисплазии у детей / И. В. Давыдова [и др.] // Пульмонология. – 2009. – № 4. – С. 80–847.

77. Межлинейные особенности физиологических реакций на разных уровнях организации у мышей при остром облучении / Е. Н. Архипова [и др.] // Биомедицина. – 2011. – № 4. – С. 43–48.

78. Межлинейные различия в чувствительности к острой гипобарической гипоксии у инбредных мышей коллекционного фонда / Х. Х. Семенов [и др.] // Биомедицина. – 2013. – № 1.– С. 78–82.

79. Межлинейные различия мышей по температурной реакции на интраназальное введение наночастиц оксида платины / Д. В. Петровский [и др.] // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2015. – Т. 19, № 4. – С. 439-444.

80. Мешкова, Е. М. Влияние антенатальной гипоксии на содержание биогенных аминов в головном мозге и печени плода и новорожденных в эксперименте / Е. М. Мешкова, И. К. Томилова, И. В. Абрамова // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 10. – С. 1769-1772.

81. Миронов, А. А. Методы электронной микроскопии в биологии и медицине. Методическое руководство / А. А. Миронов, Я. Ю. Комиссарчик, В. А. Миронов. – СПб. : Наука, 1994. – 400 с.

82. Модуляция макрофагов и реакции CD 117+ клеток различной локализации при повреждении печени у мышей / И. Г. Данилова [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2014. – Т. 157, № 3. – С. 335-338.

83. Морфологические особенности почек у потомства крыс, подвергшихся влиянию хронической внутриутробной, острой постнатальной и смешанной гипоксии / В. Д. Марковский [и др.] // Якутский медицинский журнал. – 2015. – Т. 50, № 2. – С. 94-97.

84. Морфологические особенности яичек плода при хронической внутриутробной гипоксии на разных сроках гестации / Т. В. Палатова [и др.] // Бюллетень медицинских интернет конференций. – 2017. – Т. 6, № 2. – С. 560-562.

85. Морфофункциональные особенности иммунной системы у мышей линий СВА и С57В1/6g / В. А. Шкурупий [и др.] // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2010. – Т. 150, № 12. –С. 2-5.

86. Надеев, А. П. Печень и плацента в пери- и постнатальный периоды при патологии: клинико-экспериментальное исследование / А. П. Надеев, В. А. Шкурупий, И. О. Маринкин. – Новосибирск : Наука, 2014. – 244 с.

87. Надеев, А. П. Роль цитокинов в дифференцировке клеток паравентрикулярной зоны головного мозга у плодов с внутриутробным энцефалитом / А. П. Надеев, О. В. Перова, М. А. Травин // Архив патологии. – 2014. – № 3. – С. 20-23.

88. О роли синусоидальных клеток печени и клеток костного мозга в обеспечении регенераторной стратегии здоровой и поврежденной печени / А. В. Люндуп [и др.] // Вестник трансплантологии и искусственных органов. – 2010. – Т. 12, № 1. – С. 78-85.

89. Орынбасаров, С. О. Неблагоприятные экологические факторы и перинатальная патология: на примере региона Приаралья Республики Казахстан / С. О. Орынбасаров, Н. П. Надеев, С. В. Залавина. – Новосибирск : Наука, 2016. – 156 с.

90. Особенности активации макрофагов печени при персистенции бактериальной инфекции / И. П. Жураковский [и др.] // Вестник НГУ. Серия : Биология, клиническая медицина. – 2012. – Т. 10, № 4. – С. 60-65.

91. Особенности инфицирования плаценты цитомегаловиру- сом и вирусом простого герпеса 2-го типа при доношенной беременности [Электронный ресурс] / А. П. Надеев [и др.] // Медицина и образование в Сибири. – 2015. – URL : https://cyberleninka.ru/article/v/osobennosti-infitsirovaniya-platsenty-tsitomegalovirusom-i-virusom-prostogo-gerpesa-vtorogo-tipa-pri-donoshennoy-beremennosti.

92. Особенности организменного ответа мышей разных линий на острое гамма-облучение / Ю. С. Медведева [и др.] // Биомедицина. – 2013. – № 2. – С. 61-73.

93. Особенности реакций иммунной системы мышей разных линий / Н. В. Масная [и др.] // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2002. – № 10. – С. 437-439.

94. Отдаленные структурные последствия антенатальной гипоксии / Е. Н. Сазонова [и др.] // Актуальные вопросы экспериментальной биологии и медицины : материалы региональной научной конференции ДВГМУ, 2-й. – Хабаровск, 2015. – С. 42–49.

95. Пат. 2289853 Российская Федерация, МПК G 09 B 23/28. Способ моделирования кандидозной инфекции у экспериментальных животных / Надеев А. П., Шкурупий В. А.; заявители и патентообладатели : Государственное учреждение Научный центр клинической и экспериментальной медицины Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. – № 2005 06030 (007442)/14; заявл., 03.03.2005; опубл. 20.12.2006, Бюл. № 35.

96. Патоморфологические изменения почек при системном кандидозе у мышей оппозитных линий и при лечении композицией амфотерицина Bc окисленным декстраном / В. А. Шкурупий [и др.] // Сибирское медицинское обозрение. – 2011. – Т. 23, № 3. – С. 38–42.

97. Патоморфология особенностей развития макроглии головного мозга плода и новорожденного при повредающем воздействии хронической внутриутробной гипоксии в перинатальном периоде (экспериментальное исследование) [Электронный ресурс] / Г. И. Губина-Вакулик [и др.] // Universum: Медицина и фармакология. – 2017. – URL: http://7universum.com/ru/med/archive/item/4590 28

98. Перинатальная смертность: причины, факторы риска, пути снижения / В. В. Симрок [и др.] // Таврический медикобиологический вестник. – 2012. – Т. 15, № 2. – С. 280–282.

99. Пинаева, О. Г. Структурно-функциональное состояние печени белых крыс, подвергнутых антенатальной гипоксии, и коррекция возникающих нарушений аналогами лей-энкефалина : дисс. … канд. мед. наук : 14.03.03 /

О. Г. Пинаева; Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания – Хабаровск, 2017. – 151 с.

100. Погодаева, Т. В. Исследование гомеостатической функции почек для прогнозирования нефропатий у новорожденных / Т. В. Погодаева, В. Н. Лучанинова // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 10. – С. 290-295.

101. Полиморфизм генов матриксных металлопротеиназ MMP2, MMP3, MMP9 у женщин с ревматоидным артритом / А. В. Шевченко [и др.] // Терапевт. арх. – 2015. – Т. 87, № 12. – С. 36-40.

102. Потеряева, О. Н. Матриксные металлопротеиназы: строение, регуляция, роль в развитии патологических состояний (обзор литературы) : [Электронный ресурс] / О. Н. Потеряева // Медицина и образование в Сибири. – 2010. – URL : https://cyberleninka.ru/article/v/matriksnye-metalloproteinazy-stroenie-regulyatsiya-rol-v-razvitii-patologicheskih-sostoyaniy-obzor-literatury.

103. Прогнозирование течения и исходов язвенно-некротического энтероколита у новорожденных/ И. Н. Хворостов [и др.] // Российский педиатрический журнал. –2014. – № 2. – С. 10–14.

104. Протопопова, Н. В. Состояние фетальной гемодинамики и закономерности ее изменений в условиях антенатальной гипоксии и задержки внутриутробного развития плода / Н. В. Протопопова, Е. В. Одареева, Н. Н. Бондаренко // Сибирский медицинский журнал. – 2012. – № 7. – С. 39-42.

105. Реакции системы иммунитета разных инбредных мышей на иммобилизационныйстресс / А. А. Чурин [и др.] // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2003. –Т. 136, № 9 – С. 304–308.

106. Регенераторно-пластическая недостаточность сердца: Морфологические основы и молекулярные механизмы / Л. М. Непомнящих [и др.]. – М. : изд-во РАМН, 2003. – 255 с.

107. Региональные аспекты перинатальной смертности / О. Г. Фролова [и др.] // Акушерство и гинекология – 2010. – № 5. – С. 84–87.

108. Регуляция гомеостаза кислорода. Фактор, индуцированный гипоксией (HIF) и его значение в гомеостазе кислорода / А. А. Левина [и др.] // Педиатрия. – 2009. – Т. 87, № 4. – С. 92–97.

109. Роль внутриутробной инфекции в прогнозировании развития плацентарной недостаточности при беременности высокого риска / Л. Д. Белоцерковцева [и др.] // Вестник РУДН. Серия : Медицина. Акушерство и гинекология. – 2010. – № 6. – С. 44–60.

110. Роль дисбиотических нарушений влагалища в развитии инфекционно-воспалительных осложнений новорожденных / М. П. Абезиванова [и др.] // Амбулаторно-поликлиническая помощь – в эпицентре женского здоровья : материалы 10-го всерос. конгресса. – М., 2013. – С. 375–376.

111. Роль матриксной металлопротеиназы-9 в патогенезе остеопороза у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких / Е. А. Кочеткова [и др.] // Терапевтический архив. – 2012.– № 8. – С. 37–40.

112. Роль матриксных металлопротеиназ при неблагоприятных исходах беременности, ассоциированных с эндометриальными причинами / Н. М. Подзолкова [и др.] // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2017. – Том 16, № 2. – С. 74–77.

113. Роль матриксных металопротеиназ и их ингибитора в развитии раннего фиброза легких при гриппе A/H5N1 A/Goose/Krasnoozersoye/627/05 у мышей / А. Г. Аникина [и др.] // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2013. – № 7. – С. 17-20.

114. Роль наследственности при инфекционных болезнях животных / В. Н. Кисленко [и др.] // Актуальные вопросы ветеринарии : материалы 3-й научно-практ. конф. факультета ветеринарной медицины НГАУ. – Новосибирск. – 2001. – С. 36–38.

115. Роль пренатальной гипоксии в механизме формирования «гиперэхогенного внутрисердечного фокуса» у плода [Электронный ресурс] / Е. И. Малинина [и др.] // – 2014. – URL : https://cyberleninka.ru/article/v/rol-

prenatalnoy-gipoksii-v-mehanizme-formirovaniya-giperehogennogo-vnutriserdechnogo-fokusa-u-ploda.

116. Руяткина, Л. А. Возможностиприменениясинсулинадетемир при лечениисахарногодиабета *у* беременных*:* доказанные преимущества и перспективыиспользования / Л. А. Руяткина, М. Ю. Сорокин // Фарматека, – 2015. – № 17. – С. 64–71.

117. Самсыгина, Г. А. Кандидоз центральной нервной системы у детей первых месяцев жизни / Г. А. Самсыгина // Педиатрия. – 2010. – Т. 89, № 1. – С. 116-121.

118. Семина, В. И. Перинатальная гипоксия: патогенетические аспекты и подходы к диагностике (обзор литературы). Часть 2 / В. И. Семина, Ю. А. Степанова // Медицинская визуализация. – 2015. – № 3. – С 99-106.

119. Сергеев, А. Ю. Кандидоз. Природа инфекции, механизмы агрессии и защиты, лабораторная диагностика, клиника и лечение / А. Ю. Сергеев, Ю. В. Сергеев. – М. : Триада-Х. – 2001. – 472 с.

120. Симанкова, А. А. Влияние регуляторных пептидов семейства опиоидов на ранние постнатальные церебральные последствия антенатальной гипоксии / А. А. Симанкова, О. А. Лебедько, Е. Н. Сазонова // Дальневосточный медицинский журнал. – 2014. – № 4. – С. 76–80.

121. Система мононуклеарных фагоцитов печени и цитокины сыворотки крови при персистенции бактериальной инфекции на фоне светового десинхроноза беременности [Электронный ресурс] / И. О. Маринкин [и др.] // Медицина и образование в Сибири. – 2012. – URL : https://cyberleninka.ru/article/v/sistema-mononuklearnyh-fagotsitov-pecheni-i-tsitokiny-syvorotki-krovi-pri-persistentsii-bakterialnoy.

122. Современный взгляд на проблему антенатальной гибели плода / С. В. Короткова [и др.] // Сибирский медицинский журнал. – 2014. – № 7. – С. 5-10.

123. Содержание свободной металлопротеиназы ММР-9 и комплекса ММР-9/TIMP-1 в сыворотке крови при стабильном течении хронической обструктивной

болезни легких, ассоциированной с ишемической болезнью сердца / В. А. Невзорова [и др.] // Пульмонология. – 2011. – Т. 2. – С. 72-80.

124. Состояние внеклеточного матрикса при HCV-ассоциированном фиброзе печени / И. С. Горелова [и др.] // Медицинская иммунология. – 2017. – Т. 19, № 1. – С. 35–44.

125. Структура синусоидальных клеток печени у пациентов с коинфекцией вич /вирус гепатит С / Н. В. Матиевская [и др.] // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. –2013. – № 1. – С. 26–30.

126. Студеникин, М. Я. Гипоксия плода и новорожденного / М. Я. Студеникин. – М. : Медицина, 1984. – 222 с.

127. Субботина, Т. И. Ультраструктурные изменения гепатоцитов как показатель тяжести функциональных нарушений печени / Т. И. Субботина // Вестник новых медицинских технологий. – 1997. – Т. 4, № 4 – С. 42–46.

128. Суменкова**,** Д. В. Активность матриксных металлопротеиназ на фоне антимикобактериальной терапии мышей с моделью туберкулезного воспаления / Д. В. Суменкова., Г. С. Русских, О. Н. Потеряева // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2013. – Т. 155, № 1. – С. 40-42.

129. Трунова, Г. В. Морфофункциональная характеристика популяций тучных клеток у мышей Balb/c и C57B1/6 при холодовом воздействии / Г. В. Трунова // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2004. – № 8.– С 207-209.

130. Умеренная внутриутробная гипоксия плода как клинически значимая модель для изучения антигипоксической активности лекарственных средств / Е. Б. Шустов [и др.] // Биомедицина. – 2016. – № 3. – С. 4–10.

131. Усманова З. А. Анализ ассоциации матрикснойметаллопротеиназы-9 и тканевого ингибитора металлопротеиназы-1 с уровнем цинка в различных биосубстратах у больных с каротидным стенозом / З. А. Усманова, А. Н. Арипов // Клиническая и лабораторная диагностика. – 2015. – Т. 60, № 10. – С. 26–28.

132. Усманова, З. А. Взаимосвязь матриксной металлопротеиназы-9 и ее тканевого ингибитора-1 с липидным профилем крови у больных каротидным

атеросклерозом / З. А. Усманова, Г. А. Розыходжаева // Кардиология. – 2015. – Том 55, № 9. – С. 57–58.

133. Уткина, Л. И. Изменение печени потомства белых крыс под влиянием внутриутробной хронической гипоксии / Л. И. Уткина, С. С. Тимошин // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1990, № 11. – С. 541-543.

134. Фармакоэкономический анализ применения микафунгина при лечении инвазивного кандидоза у новорожденных детей / А. С. Колбин [и др.] // Педиатрическая фармакология. – 2011. – Т. 8, № 4. – С. 36–44.

135. Федотов, В. П. Актуальные проблемы кандидоза (размышления миколога-дерматовенеролога – по данным литературы и собственных исследований) / В. П. Федотов // Дерматовенерология. Косметология. Сексопатология. – 2012. – № 1–4. – С. 103–128.

136. Функциональное состояние фагоцитов в динамике *Candida albicans*–индуцированного гранулематозного воспаления / В. В. Курилин [и др.] // Проблемы медицинской микологии. – 2004. – Т. 6, № 2. – С. 90.

137. Хайбуллина, З. Р. Некоторые аспекты действия сверхмалых доз антиоксидантов при экспериментальной гипоксии плода / З. Р. Хайбуллина, Ч. К. Собиржанова // Вестник Новосибирского государственного педагогического университета. – 2014. – Т. 17, № 1. – С. 211-218.

138. Хачатурьян, М. Л. Влияние сезона года на устойчивость крыс к гипоксии / М. Л. Хачатурьян, Л. А. Панченко // Бюл. эксперим. биологии и медицины – 2002. – Т. 133, № 3. – С. 348-351.

139. Худякова, Н. А. Различия ЭЭГ-активности у наркотизированных и ненаркотизированных мышей линий BALB/c, CBA и C57Bl/6 / Н. А. Худякова // Вестник Удмуртского университета. Серия : Биология. Науки о Земле. – 2015. – Т. 25, Вып. 3. – С. 85–87.

140. Цинзерлинг, В. А. Перинатальные инфекции. Вопросы патогенеза, морфологической диагностики и клинико-морфологических сопоставлений : руководство для врачей / В. А. Цинзерлинг, В. Ф. Мельникова. – СПб. : Элби-СПб, 2002. – 352 с.

141. Цитокины и матриксные металлопротеиназыпри некротическом энтероколите у недоношенных детей / И. Е. Смирнов [и др.] // Российский педиатрический журнал. – 2016. – Том 19, № 6. – С. 343–350.

142. Частота и нозологические формы врожденных пороков развития в структуре летальности плодов и новорожденных в г. Новосибирске / А.П.Надеев [и др.] // Хирургия, морфология, лимфология. – 2014. – Т. 2, № 21. – С. 111-113.

143. Черкасская, Г. В. Оценка диагностических возможностей различных методов интранатального фетального монитринга : дис. … канд. мед. наук : 14.01.01 / Г. В. Черкасская. – Екатеринбург, 2014. – 127 с.

144. Шкурупий, В. А. Ультраструктура клеток печени при стрессе / В. А. Шкурупий. – Новосибирск : Наука. Сиб. отделение, 1989. – 140 с.

145. Шкурупий, В. А. Электронномикроскопическое исследование эндоцитарной способности паренхиматозных и синусоидальных клеток печени в экспериментальных условиях / В. А. Шкурупий, И. Н. Индикова // Цитология и генетика. – 1977. – Т. 11, № 1. – С. 23-26.

146. Шмидт, Е. Ф. Изменчивость предпочтения алкоголя у лабораторных мышей в зависимости от генотипа и среды / Е. Ф. Шмидт // Биомедицина. – 2005, № 1. – С. 81-87.

147. Штейн, Г. И. Кинетика полиплоидизации гепатоцитов в процессе постнатального развития млекопитающих: автореф. дис. … канд. биол. наук. : 03.00.25 / Г. И. Штейн. – СПб., 1991. – 19 с.

148. Экспрессия матриксной металлопротеиназы 9 и её тканевого ингибитора в сосудах головного мозга при экспериментальном моделировании хронического табакокурения / Н. В. Захарчук [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 4.– С. 466.

149. Элбакидзе, Г. М. Внутриорганные и внутритканевые механизмы регуляторных воздействий клеток Купфера на гепатоциты / Г. М. Элбакидзе, А. Г. Меденцев // Вестн. РАМН. – 2013. – № 2. –С. 50-54.

150. Элбакидзе, Г. М. Механизмы протекторного действия активированных эндотоксином клеток Купфера на гепатоциты / Г. М. Элбакидзе // Вестн. РАМН.– 2012. – № 5. – С. 48–54.

151. Элбакидзе, Г. М., Исследование влияния продигиозан-зависимого комутона на медленный выход ионов кальция из матрикса митохондрий различной тканевой и видовой принадлежности / Г. М. Элбакидзе, А. Г. Элбакидзе, А. Г. Меденцев // Доклады Академии наук. – 2011. – Т. 437, № 6. – С. 842-845.

152. Эрман, М. В. Фетальное программирование почечных функций / М. В. Эрман, Т. М. Первунина // Практическая медицина. – 2012. – Т. 65, № 9. – С. 57–60.

153. Эсмедляева, Д. С. Система матриксных металлопротеиназ в оценке деструктивных процессов лёгочной ткани при туберкулёзе / Д. С. Эсмедляева, О. Т. Титаренко, М. В Павлова // Туберкулёз и болезни лёгких. – 2015. – № 8. – С. 38–42.

154. Этиопатогенетические аспекты угрозы прерывания беременности и врожденных пороков развития плода при рецидиве ЦМВИ в период беременности. Пособие для врачей / М. Т. Луценко [и др.] – Благовещенск : ДНЦ ФПД СО РАМН, 2014. – 43 с.

155. Ярмолинская, М. И. Матриксные металлопротеиназы и ингибиторы: классификация, механизм действия: обзор. / М. И. Ярмолинская, А. С. Молотков, В. М. Денисова // Журнал акушерства и женских болезней. – 2012. – Т. 61, № 1. – С. 123–125.

156. A lineage of myeloid cells independent of Myb and hematopoietic stem cells / C. Schulz [et al.] // Science. – 2012. – Vol. 6, № 336. – P. 86–90.

157. Abdullah, Z. Liver macrophages in healthy and diseased liver / Z. Abdullah, P. A. Knolle // Pflugers Arch. – 2017. – Vol. 469, № 3–4. – P. 553-560.

158. Activated Kupffer cells cause a hypermetabolic state after gentle in situ manipulation of liver in rats / P. Schemmer [et al.] // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. – 2001. – Vol. 280, № 6 – P. 1076–1082.

159. Adamson, I. Y. R. Différential of production of metalloproteinases after instilling various urban air particle samples to rat lung. / I. Y. R. Adamson, R. Vincent, J. Bakowska // Exp. Lung. Res. – 2003. – Vol. 29. – P. 375–388.

160. Ahearne, C. E. Short and long term prognosis in perinatal asphyxia: an update / C. E. Ahearne, G. B. Boylan, D. M. Murray // World. J. Clin. Pediatr. – 2016. – Vol. 5, № 1. – P. 67–74. – doi : 10.5409/wjcp.v5.i1.67.

161. Akt signaling as a mediator of cardiac adaptation to low birth weight / K. C. Wang [et al.] // J. Endocrinol. – 2017. – Vol. 233, № 2. – P.81–94.

162. Anaissie E. J. Fungal infections in the pediatric patient / E. J. Anaissie, M. R. McGinnis, M. A. Pfaller // Clinical mycology / A. H. Groll, T. J. Walsh – New York : Churchill Livingstone. – 2003. – P. 417–442.

163. Bharwani, S. K. Systemic fungal infection is associated with the development of retinopathy of prematurity in very low birth weight infants: a meta-review / S. K. Bharwani, R. Dhanireddy // J. Perinatol. – 2008. – Vol. 28, № 1. – P. 61-66.

164. Bialas, K. M. Perinatal cytomegalovirus and varicella zoster virus infections: epidemiology, prevention and treatment / K. M. Bialas, G. K. Swamy, S. R. Permar // Clin. Perinatol. – 2015. – Vol. 42, № 1. – P. 61–75.

165. Błaszkowska, D. Parasites and fungi as a threat for prenatal and postnatal human development / D. Błaszkowska, K. Góralska // Annals. of Parasitology. – 2014. – Vol. 60, № 4. – P. 225–234.

166. Bone marrow-derived macrophages from BALB/c and C57BL/6 mice fundamentally differ in their respiratory chain complex proteins, lysosomal enzymes and components of antioxidant stress systems / M. Depke [et al.] // J. Proteomics. – 2014. – Vol. 30, № 103. – P. 72–86.

167. Brinckerhoff, C. E. Matrix metalloproteinases: a tail of a frog that became a prince / C. E. Brinckerhoff, L. M. Matrisian // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. – 2002. – Vol. 3, № 3. – P. 207–214.

168. Callery, M. P. Kupffer cell prostaglandin-E2 production is amplified during hepatic regeneration / M. P. Callery, M. J. Mangino, M. W. Flye // Hepatology. – 1991. – Vol. 14, № 2. – P. 368–372.

169. Characterization of two F4/80-positive Kupffer cell subsets by their function and phenotype in mice / M. Kinoshita [et al.] // J. Hepatol. – 2010. – № 53. – P. 903-910. – doi : 10.1016/j.jhep.2010.04.037.

170. Classifying DNA assembly protocols for devising cellular architectures / X. Wang [et al.] // Biotechnol. Adv. – 2011. – Vol. 29, № 1. – P. 156–163.

171. Correlation of oxidative stress markers with ultrasound and cardiotocography parameters with hypertension induced pregnancy / D. Draganovic [et al.] // Acta. Inform. Med. – 2017. – Vol. 25, № 1. – P. 19–23. – doi : 10.5455/aim.2017.25.19-23.

172. Dabbs, D. J. Diagnostic immunohistochemistry: theranostic and genomic applications / D. J. Dabbs – Philadelphia : Saunders, 2013. – 960 p.

173. Decker, K. Biologically active products of stimulated liver macrophages (Kupffer cells) / K. Decker // Eur. J. Biochem. – 1990. – Vol. 192, № 2. – P. 245–261.

174. Dennery, P. A. Role of redox in fetal development and neonatal diseases / P. A. Dennery // Antioxid. Redox Signal. – 2004. – Vol. 6, № 1. – P. 147-153.

175. Differential regulation of matrix metalloproteinase 2 and matrix metalloproteinase 9 by activated protein C relevance to inflammation in rheumatoid arthritis / M. Xue [et al.] // Arthritis Rheumatism. – 2007. – Vol. 56, № 9. – P. 2864-2874.

176. Does maternal smoking during pregnancy cause childhood overweight? / M. Wideroe [et al.] // Paediatr. Perinat. Epidemiol. – 2003. – Vol. 17, № 2. – P. 171-179.

177. Drożdżyca pochwy ja koprzyczyna sepsygrzybiczej o niepomyślnym przebiegu u noworodka ze skrajnie małą urodzeniową masą ciała / M. Skoczylas [et al.] // PostępyNeonatologii. – 2011. – № 2. – P. 50–53.

178. Effect of lipopolysaccharide and cytokines on oxidative metabolism in neonatal rat hepatocytes / K. J. New [et al.] // J. Pediatr. Surg. – 2001. – Vol 36, № 2. – P. 338–340.

179. Elastin accumulation is regulated at the level of degradation by macrophage metalloelastase (MMP-12) during experimental liver fibrosis / A. Pellicoro [et al.] // Hepatology. – 2012. – Vol. 55, № 6. – P. 1965–1975.

180. Environment drives selection and function of enhancers controlling tissue-specific macrophage identities / D. Gosselin [et al.] // Cell. – 2014. – Vol. 159, № 6. – P. 1327–1340.

181. Essential role of matrix metalloproteinases in interleukin-1-induced myofi bro blastic activation of hepatic stellate cell in collagen / Y. P. Han [et al.] // J. Biol. Chem. – 2004. – Vol. 279, № 6. – P. 4820–4828.

182. Expression of matrix metalloproteinase-26 and tissue inhibitors of metalloproteinase-3 and -4 in normal ovary and ovarian carcinoma / D. Ripley [et al.] // Int. J. Gynecol. Cancer. – 2006. – Vol. 16, № 5. – P. 1794–1800.

183. Faix, R. G. Central nervous system candidiasis in the high-risk neonate / R. G. Faix, R. L. Chapman // Semin. Perinatol. – 2003. – Vol. 27, № 5. – P. 384-392.

184. Farías, J. G. Melatonin protects the heart, lungs and kidneys from oxidative stress under intermittent hypobaric hypoxia in rats / J. G. Farías, A. B. Zepeda, G. M. Calaf // Biol. Res. – 2012. – Vol. 45, № 1. – P. 81–85.

185. Fate mapping reveals origins and dynamics of monocytes and tissue macrophages under homeostasis / S Yona [et al.] // Immunity. – 2013. – Vol. 38. – P. 79–91.

186. Fukumoto, T. Possible developmental interactions of hematopoietic cells and hepatocytes in fetal rat liver / T. Fukumoto // Biomed. Res. – 1992. – № 13. – P. 385–413.

187. Ganz, T. Macrophages and systemic iron homeostasis / T. Ganz // J. Innate. Immun. – 2012. – Vol. 4, № 5–6. – P. 446–453.

188. Gao, B. Liver: An Organ with Predominant Innate Immunity Liver / B. Gao, W. I. Jeong, Z. Tian. // Hepatology. – 2008. – Vol. 47, № 2. – P. 729–736.

189. Ghaleb, H. A. Novel hypothesis for pathophysiology of hepatitis fibrosis in hepatitis C viral infection / H. A. Ghaleb, S. A. Salah // Hypothesis. – 2011. – Vol. 9, № 1. – P. 1–5.

190. Gialeli, C. Roles of matrix metalloproteinases in cancer progression and their pharmacological targeting / C. Gialeli, A. D. Theocharis, N. K. Karamanos // FEBS J. – 2011. – Vol. 278, № 1. – P. 16–27.

191. Giussani, D. A. Topical review the fetal brain sparing response to hypoxia: physiological mechanisms / D. A. Giussani // J. Physiol. – 2016. – Vol. 594, № 5. – P. 1215–1230.

192. Glycolipid presentation to natural killer T cells differs in an organ-dependent fashion. / J Schmieg [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. – 2005. – Vol. 102, № 4. – P. 1127–1132.

193. Gonzalez-Dominguez, E. CD163L1 and CLEC5A discriminate subsets of human resident and inflammatory macrophages in vivo / E Gonzalez-Dominguez [et al.] // J. Leukoc. Biol. – 2015. – Vol. 98, № 4. – P. 453–466.

194. Gregory, S. H. Neutrophil-Kupffer cell interaction: a critical component of host defenses to systemic bacterial infections / S. H. Gregory, E. J. Wing // Journal of Leukocyte Biology. – 2002. – Vol. 72, № 2. – P. 239–248.

195. Gruppuso, P. A. Hepatic translation control in the late-gestation fetal rat / P. A. Gruppuso [et al.] // American Journal of Physiology – Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. – 2008. – Vol. 295, № 2. – P. R558–R567.

196. Guy, E. S. Acute asthma in pregnancy / E. S. Guy, A. Kirumaki, N. A. Hanania // Crit. Care. Clin. – 2004. – Vol. 20, № 3. – P.731–745.

197. HCV-related proteins activate Kupffer cells isolated from human liver tissues / N. Hosomura [et al.] // Dig. Dis. Sci. –2011. – Vol. 56, № 4. – P. 1057–1064.

198. He, Q. Fumonisin B1 hepatotoxicity in mice is attenuated by depletion of Kupffer cells by gadolinium chloride / Q. He, J. Kim, R. P. Sharma // Toxicology. – 2005. – Vol. 207, № 1. – P. 137–147.

199. Hepatic macrophages but not dendritic cells contribute to liver fibrosis by promoting the survival of activated hepatic stellate cells in mice / J. P. Pradere [et al.] // Hepatology. – 2013. – Vol. 58, № 4. – P. 1461–147.

200. Hepatic stellate cells and liver fibrosis / J. P. Pradere [et al.] // Compr. Physiol. – 2013. – Vol. 3, № 4. – P. 1473–1492.

201. Hepatic recruitment of the inflammatory Gr11 monocyte subset upon liver injury promotes hepatic fibrosis / K. R. Karlmark [et al.] // Hepatology. – 2009. – Vol. 50. – P. 261–274.

202. Hepatitis C virus induces interleukin-1beta (IL-1beta)/IL-18 in circulatory and resident liver macrophages / S. Shrivastava [et al.] // J Virol. – 2013. – Vol. 87, № 22. – P. 12284–12290.

203. Host genetic background affects regulatory T-cell activity that influences the magnitude of cellular immune response against Mycobacterium tuberculosis / M. O. Paula [et al.] // Immunol. Cell. Biol. – 2010. – Vol. 89, № 42. – P. 526-534.

204. Human perinatal immunity in physiological conditions and during infection / T. J. Gijs [et al.] // Molecular and Cellular Pediatrics. – 2017. –Vol. 4, № 4. – doi : 10.1186/s40348-017-0070-1.

205. Hypoxia inducible factor signaling and experimental persistent pulmonary hypertension of the newborn [Electronic resource] / S. Wedgwood [et al.] // Front. Pharmacol. – 2015. – URL : https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2015.00047/full.

206. ICAM-1 triggers liver regeneration through leukocyte recruitment and Kupffer cell-dependent release of TNF-α/IL-6 in mice / S. Nazia [et al.] // Gastroenterology. – 2003. – Vol. 124, № 3. – P. 692–700.

207. Importance of kupffer cells for t-cell-dependent liver injury in mice / J. Schumann [et al.] // Am. J. Pathol. – 2000. – Vol. 157, № 5. – P. 1671-1683.

208. Inhibition of Kupffer cell autophagy abrogates nanoparticle-induced liver injury / S. Zhu [et al.] // Adv. Healthc. Mater. – 2017. – Vol. 6, № 9. – doi : 10.1002/adhm.201601252.

209. Jiang, H. Diagnostic value of human cytomegalovirus late mRNA detection in active intrauterine infection / H. Jiang, L. Wen, X. Ling // Clin. Med. J. – 2002. – Vol. 115, № 10. – P. 1507–1509.

210. Ju, C. Hepatic macrophages in homeostasis and liver diseases: from pathogenesis to novel therapeutic strategies /C. Ju, F. Tacke // Cellular & Molecular Immunology. – 2016. – Vol. 13, № 3 – P. 316–327.

211. Kazdoba, T. M. Automated evaluation of sensitivity to foot shock in mice: inbred strain differences and pharmacological validation / T. M. Kazdoba, R. A. Del Vecchio, L. A. Hyde // Behav. Pharmacol. – 2007. – Vol. 18, № 2. – P. 89–102.

212. Limrón-Pacheco, J. H. The glutathione system and its regulation by neurohormone melatonin in the central nervous system / J. H. Limrón-Pacheco, M. E. Gonsebatt // Centr. Nerv. System. Agents. Med. Chem. – 2010. – Vol. 10, № 4. – P. 287–297.

213. Liver inflammation abrogates immunological tolerance induced by Kupffer cells / F. Heymann [et al.] // Hepatology. – 2015. – Vol. 62, № 1. – P. 279-291.

214. Long-term neurodevelopmental outcomes after intrauterine and neonatal insults: a systematic review / M. K. Mwaniki [et al.] // Lancet. – 2012. – Vol. 379, № 9814. – P. 445–452.

215. Lotowska, J. M. The role of Kupffer cells in the morphogenesis of nonalcoholic steatohepatitis – ultrastructural findings. The first report in pediatric patients / J. M. Lotowska, M. E. Sobaniec-Lotowska, D. M. Lebensztejn // Scand. J. Gastroenterol. – 2013. – Vol. 48, № 3. – P. 352–357.

216. Maesco, G. Levels of metalloproteinase-2 and -9 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 in gingival crevicular fluid of patients with periodontitis, gingivitis, and healthy gingival / G. Maesco, M. Bravo, F. Bascones // Quintessence Int. – 2007. – № 38. – P. 247–252.

217. Martin-Gronert, M. S. Experimental IUGR and later diabetes / M. S. Martin-Gronert, S. E. Ozanne // J. Intern. Med. – 2007. - Vol. 261, № 5. – P. 437 452.

218. Maternal high-fat diet disturbs uteroplacental hemodynamics and increases the frequency of stillbirth in a nonhuman primate model of excess nutrition / A. E. Frias [et al.] // Endocrinology. – 2011. – Vol. 152, № 6. – P. 2456-2464.

219. Matrix metalloproteinase and its drug targets therapy in solid and hematological malignancies: an overview / A. K. Chaundary [et al.] // Mutat. Res. – 2013. – Vol. 753, № 1. – P. 7–23.

220. Matrix metalloproteinase-14 expression and its prognostic value in cervical carcinoma / H. Wang [et al.] // Cell Biochemistry and Biophysics. – 2014. – Vol. 70, № 2. – P. 729–734. – doi : 10.1007/s12013-014-9974-8.

221. Matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in perinatal asphyxia / S. Sunagawa [et al.] // Brain & Development. – 2009. – Vol. 31, № 8. – P. 588–593.

222. Matrix metalloproteinase-9 gene knock-out protects the immature brain after cerebral hypoxia-ischemia / P. Svedin [et al.] // J. Neurosci. – 2007. – Vol. 27, № 7. – P. 1511–1518.

223. Matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in preterm perinatal complications / J. V. Cockle [et al.] // Reprod. Sci. – 2007. – Vol. 14, № 7. – P. 629-645.

224. Matrix metalloproteinases at cancer tumorhost interface. / A. Noel [et al.] // Semin. Cell. Dev. Biol. – 2008. – Vol. 19. № l. – P. 52–60.

225. Matrix metalloproteinases in premature coronary atherosclerosis: influence of inhibitors, inflammation, and genetic polymorphisms / S. Nanni [et al.] // Translational. Research. – 2007. – Vol. 149, № 3. – P. 137–144.

226. Matrix metalloproteinases-3, -8, -9 as markers of disease activity and joint damage progression in early rheumatoid arthritis / I. Tchetverikov [et al.] // Ann. Rheum. Dis. – 2003. – Vol. 62, № 11. – P. 1094–1099.

227. Matrixmetalloproteinases / O. Zitka [et al.] // Curr. Med. Chem. – 2010. – Vol. 17, № 31. – P. 3751–3768.

228. McCuskey, R. S. The hepatic microvascular system in health and its response to toxicants / R. S. McCuskey // The anatomical record. – 2008. – Vol. 291, № 6. – P. 661–671.

229. Measures of maternal tobacco exposure and infant birth weight at term / L. J. England [et al.] // Am. J. Epidemiol. – 2001– Vol. 153, № 10. – P. 954-960.

230. MMP profile in paired serum and synovial fluid samples of patients with rheumatoid arthritis. / I. Tchetverikov [et al.] // Ann. Rheum. Dis. – 2004. – Vol. 63, № 7. – P. 881–883.

231. MMP-2 and MMP-9 and their tissue inhibitors in the plasma of preterm and term neonates / C. G. Schulz [et al.] // Pediatr. Res. – 2004. – Vol. 55, № 5. – P. 794-801.

232. MMP-9 and SCF protect from apoptosis in acute kidney injury / S. Bengatta [et al.] // JASN – 2009. – Vol. 20, № 4. – P. 787–797.

233. Moore, L. G. Humans at high altitude: hypoxia and fetal growth / L. G. Moore, S. M. Charles, C. G. Julian // Respir Physiol Neurobiol. – 2011. – Vol. 178, № 1. – P. 181–190.

234. Mormone, E. Molecular pathogenesis of hepatic fibrosis and current therapeutic approaches / E. Mormone, J. George, N. Nieto // Chem. Biol. Interact. – 2011. – Vol. 193, № 3. – P. 225–231.

235. Multiple signaling pathways involved in activation of matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) by heregulin-β1 in human breast cancer cells / J. Yao [et al.] // Oncogene. – 2001. – Vol. 20, № 5–6. – P. 8066–8074.

236. Munthe-Kaas, A. C. On the mechanism of internalization of opsonized particles by rat Kupffer cells in vitro / A. C. Munthe-Kaas, G. Kaplan, R. Seljelid // Exp. Cell. Res. – 1976. – V. 103, № 1. – P. 201–212 – doi. : org/10.1016/0014-4827(76)90256-1.

237. Nagase, H. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMP / H. Nagase, R. Visse, G. Murphy // Cardiovasc. Res. – 2006. – Vol. 69, № 3. – P. 562-573.

238. Ness, R. B. Shared and disparate components of the pathophysiologies of fetal growth restriction and preeclampsia / R. B. Ness, B. M. Sibai // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2006. – Vol. 195, № 1. – P. 40–49.

239. Newby, E. A. Fetal endocrine and metabolic adaptations to hypoxia: the role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis / E. A. Newby, D. A. Myers, C. A. Ducsay // Am. J. Physiol. Endocrino.l Metab. – 2015. –Vol. 309, № 5. – P. E429–E439. – doi :10.1152/ajpendo.00126.2015.

240. p38 MAPK: a dual role in hepatocyte proliferation through reactive oxygen species / A. M. Tormos [et al.] // Free Radic Res. – 2013. – Vol. 47, № 11. – P. 905-916.

241. Patterson, A. J. Hypoxia and fetal heart development / A. J. Patterson, L. Zhang // Curr. Mol. Med. – 2010. – Vol. 10, № 7. – P. 653–666.

242. Pawlik, D. Zakażenia grzybicze noworodka-Diagnostyka, terapiaiprofilaktyka / D. Pawlik, R. Lauterbach // Medycyna Wieku Rozwojowego. – 2008. – Vol. XII, № 4. – P. 885–890.

243. Perinatal brain injury as a consequence of preterm birth and intrauterine inflammation: designing targeted stem cell therapies [Electronic resource] / M. C. B. Paton [et al.] // Front. Neurosci. – 2017. – URL : https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnins.2017.00200/full.

244. Peterside, I. I. Impaired oxidative phosphorylation in hepatic mitochondria in growth-retarded rats / I. I. Peterside, M. A. Selak, R. A. Simmons // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. – 2003. – Vol. 285, № 6. – P. 1258-1266.

245. Radioprotective effect of kupffer cell depletion on hepatic sinusoidal endothelial cells / Y. X. Chen [et al.] // Radiat. Res. – 2015. – Vol. 183, № 5. – P. 563-570. – doi : 10.1667/RR13869.1.

246. Ravi, A. Matrix metaloproteinases in inflammatoty bowel disese: boon or bane? / A. Ravi, P. Garg, Sh. V. Sitaraman // Inflamm. Bowel. Dis. – 2007. – Vol. 13, № 1. – P. 97–107.

247. Relevance of matrix metalloproteinases and their inhibitors after myocardial infarction: a temporal and spatial window / D. Vanhoutte [et al.] // Cardiovasc. Res. – 2006. –Vol. 69, № 3. – P. 604–613.

248. Remington, J. S. Infectious Disease of the Fetus and Newborn Infant [Electronic resource] / J. S. Remington, J. O. Klein. – URL : https://www.elsevier.com/books/remington-and-kleins-infectious-diseases-of-the-fetus-and-newborn-infant/wilson/978-0-323-24147-2.

249. Reynolds, E. S. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy / E. S. Reynolds // J. Cell. Biol. – 1963 – № 17. – P. 208-212.

250. Role of hepatic resident and infiltrating macrophages in liver repair after acute injury. / Q. You [et al.] // Biochem. Pharmacol. – 2013. – Vol. 86, № 6. – P. 836-843.

251. Role of matrix metalloproteinase, tissue inhibitor of metalloproteinase and tumor necrosis factor-alpha single nucleotide gene polymorphisms in inflammatory bowel disease / M. J. Meijer [et al.] // World. J. Gastroenterol. – 2007. – Vol. 13, № 21. – P. 2960–2966.

252. Role of the Kupffer cell in mediating hepatic toxicity and carcinogenesis / R. A. Roberts [et al.] // Toxicol. Sci. – 2007. – Vol. 96, № 1. – P. 2–15.

253. Role of thromboxane in producing hepatic injury during hepatic stress / Y. Yokoyama [et al.] // Arch. Surg. – 2005. – Vol. 140, № 8. –P. 801–807.

254. Semenza, G. L. Regulation of physiological responses to continuous and intermittent hypoxia by hypoxia-inducible factor 1 / G. L. Semenza // Exp. Physiol. – 2006. – Vol. 91, № 5. – P. 803–806.

255. Shrivastava, P. The response of aged mice to primary infection and re-infection with pneumonia virus of mice depends on their genetic background / P. Shrivastava, E. Watkiss, S. van Drunen Littel-van den Hurk // Immunobiology. – 2016. – Vol. 221, № 3. – P. 494–502.

256. Sieweke, M. H. Beyond stem cells: self-renewal of differentiated macrophages. / M. H. Sieweke, J. E. Allen // Science. – 2013. – Vol. 22, № 342. – P. 1242–1274.

257. Sobaniec-Lotowska, M. E. Ultrastructure of Kupffer cellsand hepatocytes in the Dubin-Johnson syndrome: a case report / M. E. Sobaniec-Lotowska, D. M. Lebensztejn // World J Gastroenterol. – 2006. – Vol. 12, № 6. – P. 987-989.

258. Subcellular calcium and magnesium mobilization in rat liver stimulated in vivo with vasopressin and glucagon / M. Bond [et al.] // J. Biol. Chem. – 1987. – Vol. 262, № 32. – P. 15630–15636.

259. Tacke, F, Macrophage heterogeneity in liver injury and fibrosis / F. Tacke, H. W. Zimmermann // J. Hepatol. – 2014. – V. 60, № 5. – P. 1090–1096.

260. Tacke, F. Targeting hepatic macrophages to treat liver diseases / F. Tacke // J Hepatol. – 2017. – Vol. 66, № 6. – P. 1300–1312. – doi : 10.1016/j.jhep.2017.02.026.

261. Tamashiro, K. L. Perinatal environment and its influences on metabolic programming of offspring / K. L. Tamashiro, T. H. Moran // Physiol. Behav. – 2010. – Vol. 100, № 5. – P. 560–566.

262. Targeted deletion of metalloproteinase 9 attenuates experimental colitis in mice: central role of epithelial-derived MMP / F. E. Castaneda [et al.] // Gastroenterology. – 2005. – Vol. 129, № 6. – P. 1991–2008.

263. The anti-atherogenic cytokine interleukin-33 inhibits the expression of a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs-1,-4 and -5 in human macrophages / T.G. Ashlin [et al.] // Int. J. Biochem. Cell. Biol. – 2014. – Vol. 46. – P. 113–123.

264. The effect of valvular heart disease on maternal and fetal outcome of pregnancy / A. Hameed [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. – 2001. – Vol. 37, № 3. – P. 893–899.

265. The role of Kupffer cells in rat liver regeneration revealed by cell-specific microarray analysis / C. S. Xu [et al.] // J. Cell. Biochem. – 2012. – Vol. 113, № 1. – P. 229–237.

266. Thiennu, H. V. Matrix metalloproteinases: effectors of development and normal physiology / H. V. Thiennu, W. Zena // Genes & Development. – 2000. – Vol. 14, № 17. – P. 2123–2133.

267. Tissue-resident macrophage enhancer landscapes are shaped by the local microenvironment / Y Lavin [et al.] // Cell. – 2014. – Vol. 159, № 6. – P. 1312–1326.

268. Tissue-resident macrophages / L.C. Davies [et al.] // Nat. Immunol. – 2013. – № 14. – P. 986–995. – doi : 10.1038/ni.2705.

269. Tissue-resident macrophages originate from yolk-sac-derived erythro-myeloid progenitors / P. E. Gomez [et al.] // Nature. – 2015. – Vol. 518, № 7540. – P. 547-551.

270. Tissue-resident macrophages self-maintain locally throughout adult life with minimal contribution from circulating monocytes / D Hashimoto [et al.] // Immunity. – 2013. – Vol. 38, № 4. – P. 792–804.

271. TLR4 enhances TGF-beta signaling and hepatic fibrosis / E. Seki. [et al.] // Nat. Med. – 2007. – Vol. 13, № 11. – P. 1324–1332.

272. Tong, W. Fetal hypoxia and programming of matrix metalloproteinases / W. Tong, L. Zhang // Drug Discov Today. – 2012. – Vol. 17, № 3–4. – P. 124-134. – doi : 10.1016 / j.drudis.2011.09.011.

273. Vaginal and endocervical microorganisms in symptomatic and asymptomatic non-pregnant females: risk factors and rates of occurrence / C. Tibaldi [et al.] // Clin. Microbiol. Infect. – 2009. – Vol. 15, № 7. – P. 670–679.

274. Verstappen, J. Tissue Inhibitors of Metalloproteinases (TIMPs): their biological functions and involvement in oral disease / J. Verstappen, J. W. Von den Hoff // J. Dent. Res. – 2006. – Vol. 85, № 12. – P. 1074–1084.

275. Visse, R. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry / R. Visse, H. Nagase // Circulation Research. – 2003. – Vol. 92, № 8. – P. 827–839.

276. Vollmar, B. The hepatic microcirculation: mechanistic contributions and therapeutic targets in liver injury and repair / B. Vollmar, M. D. Menger // Physiol. Rev. – 2009. – Vol. 89, № 4. – P. 1269–1339.

277. Vu, Th. H. Matrix metalloproteinases: effectors of development and normal physiology / Th. H. Vu., Z. Werb // Genes & Development. – 2000. – Vol. 14, № 17. – P. 2123–2133.

278. Watchko, J. F. Jaundice in low birthweight infants: pathobiology and outcome / J. F. Watchko, M. J. Maisels // Arch. Dis. Child. Fetal. Neonatal. Ed. – 2003. – Vol. 88, № 6. – P. 455–458.

279. Weibel, E. Stereological methods / E. Weibel. – London : Academ. Press, 1979. – 415 p.

280. Whitley, R. Neonatal herpes simplex virus infection / R. Whitley // Curr. Opin. Infect. Dis. – 2004. – Vol. 17, № 3. – P. 243–246.

281. Winwood, P. J. Kupffer cells: their activation and role in animal models of liver injury and human liver disease / P. J. Winwood, M. J. Arthur // Semin. Liver. Dis. – 1993. – Vol. 13, № 1. – P. 50–59.

282. Wisse, E. The investigation of sinusoidal cells: A new approach to the study of liver function / E. Wisse, D. Knook // Prog. Liver. Dis. – 1979. – № 6. – P. 153–171.

283. Wisse, E. Ultrastructure and function of Kupffer cells and other sinusoidal cells in the liver / E. Wisse // Kupffer Cells and Other Liver Sinusoidal Cells // E. Wisse, D. L. Knook – Amsterdam : North-Holland-Biomedical Press, 1977. – P. 33-56.

284. Woessner, J. F. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in connective tissue remodeling / J. F. Woessner // FASEB J. – 1991. – Vol. 5, № 8. – P. 2145–2154.

285. Yu, X. F. Matrix metalloproteinases in bone marrow: roles of gelatinases in physiological hematopoiesis and hematopoietic malignancies / X. F. Yu, Z. C Han // Histol. Histopatol. – 2006. – Vol. 21, № 5. – P. 519–531.

СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА

1. Рисунок 1 – Дрожжевые клетки (псевдомицелий) *C. albicans в* печени новорожденной мыши линии С57Bl/6, внутриутробно инфицированной *Candida albicans*. Окраска по Шабадашу, ув. × 200. . . . . С. 40
2. Рисунок 2 – Экспрессия ММР-9 в клетках печени новорожденной мыши линии СВА, подвергнутой ХВУГ: окрашенный продукт визуализируется гомогенно в клетках очагов экстрамедуллярного кроветворения (1), синусоидальных клетках (2). Докраска гематоксилином, ув. ×40. . . . . С. 44
3. Рисунок 3 – Митохондрии (1) и эндоплазматическая сеть (2) в клетке Купфера в печени новорожденной мыши линии С57Bl/6. Электронограмма, ×5600 . . . . . С. 46
4. Рисунок 4 – Первичные (1) и вторичные (2) лизосомы клетки Купфера в печени контрольной новорожденноймыши линии СВА. Электронограмма, ×5600. . . . . С. 47
5. Рисунок 5 – Численная плотность (Na_i) митохондрий в КК у контрольных новорожденных мышей линий С57Bl/6 и СВА. . . . . С. 50
6. Рисунок 6 – Объемная плотность (Vv, %) митохондрий в КК у контрольных новорожденных мышей линий С57Bl/6 и СВА. . . . . С. 51
7. Рисунок 7 – Поверхностная плотность (Sv, мкм^2/мкм^3) митохондрий в КК у контрольных новорожденных мышей линий С57Bl/6 и СВА. . . . . С. 51
8. Рисунок 8 – Соотношение показателей величин поверхностной (Sv) и объемной (Vv) плотностей митохондрий в КК у контрольных новорожденных мышей линий С57Bl/6 и СВА. . . . . С. 52
9. Рисунок 9 – Объемная плотность (Vv, %) ГЭПС в КК у контрольных новорожденных мышей линий С57Bl/6 и СВА. . . . . С. 52

10. Рисунок 10 – Поверхностная плотность (Sv, мкм^2/мкм^3) ГЭПС в КК у контрольных новорожденных мышей линий С57Bl/6 и СВА. С. 53
11. Рисунок 11– Соотношение показателей величин поверхностной (Sv) и объемной (Vv) плотностей ГЭПС в КК у контрольных новорожденных мышей линий С57Bl/6 и СВА. . . . . С. 53
12. Рисунок 12 – Численная плотность (Na_i) прикрепленных рибосом ГЭПС в КК у контрольных новорожденных мышей линий С57Bl/6 и СВА. . . . . С. 54
13. Рисунок 13 – Печень контрольной новорожденной мыши линии С57В1/6: очаги экстрамедуллярного кроветворения, мегакариоциты, двуядерные гепатоциты. Окраска: гематоксилином и эозином, ув. ×400. . . . . С. 56
14. Рисунок 14 – Отсутствие экспрессии ММР-9 гепатоцитами у контрольной новорожденной мыши линии С57В1/6. Докраска гематоксилином, ув. ×200. . . . . С. 56
15. Рисунок 15 – Численная плотность (Na_i) митохондрий КК у новорожденных мышей линий С57Bl/6 и СВА, подвергнутых ХВУГ. . . . . С. 60
16. Рисунок 16 – Объемная (Vv, %) плотность митохондрий в КК у новорожденных мышей линий С57Bl/6 и СВА, подвергнутых ХВУГ. . . . . С. 60
17. Рисунок 17 – Поверхностная (Sv, мкм^2/мкм^3) плотность митохондрий в КК у новорожденных мышей линий С57Bl/6 и СВА, подвергнутых ХВУГ. . . . . С. 61
18. Рисунок 18 – Соотношение показателей величин поверхностной (Sv) и объемной (Vv) плотностей митохондрий в КК у новорожденных мышей линий С57Bl/6 и СВА, подвергнутых ХВУГ. . . . . С. 62

19. Рисунок 19 – Объемная плотность (Vv, %) ГЭПС в КК у новорожденных мышей линий C57Bl/6 и CBA, подвергнутых ХВУГ. . . . . С. 64
20. Рисунок 20 – Поверхностная плотность (Sv, мкм^2/мкм^3) ГЭПС в КК у новорожденных мышей линий C57Bl/6 и CBA, подвергнутых ХВУГ. . . . . С. 64
21. Рисунок 21 – Соотношение показателей величин поверхностной (Sv) и объемной (Vv) плотностей ГЭПС в КК у новорожденных мышей линий C57Bl/6 и CBA, подвергнутых ХВУГ. . . . . С. 65
22. Рисунок 22 – Численная плотность (Na_i) прикрепленных рибосом ГЭПС в КК у новорожденных мышей линий C57Bl/6 и CBA, подвергнутых ХВУГ. . . . . С. 65
23. Рисунок 23 – Численная плотность (Na_i) первичных лизосом КК у новорожденных мышей линий C57B1/6 и CBA, подвергнутых ХВУГ. . . . . С. 66
24. Рисунок 24 – Объемная плотность (Vv, %) первичных лизосом КК у новорожденных мышей линий C57B1/6 и CBA, подвергнутых ХВУГ. . . . . С. 66
25. Рисунок 25 – Численная плотность (Na_i) вторичных лизосом в КК у новорожденных мышей линий C57B1/6 и CBA, подвергнутых ХВУГ. . . . . С. 67
26. Рисунок 26 – Объемная плотность (Vv, %) вторичных лизосом в КК у новорожденных мышей линий C57B1/6 и CBA, подвергнутых ХВУГ. . . . . С. 67
27. Рисунок 27 – Фаголизосома в КК у новорожденной мышей линии C57B1/6, подвергнутой ХВУГ. Электронограмма, ув. 5600. . . . . С. 68

28. Рисунок 28 – Многочисленные очаги экстрамедуллярного кроветворения, дистрофические и некротические изменения гепатоцитов у новорожденной мыши линии C57B1/6, подвергнутой ХВУГ. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. ×100. . . . . С. 69
29. Рисунок 29 – Аргирофильные волокна в паренхиме печени новорожденной мыши C57B1/6, подвергнутой ХВУГ. Окраска по Гордону – Свиту. Ув. ×200. . . . . С. 70
30. Рисунок 30 – Экспрессия MMP-9 в клетках печени новорожденной мыши линии C57B1/6, подвергнутой ХВУГ: окрашенный продукт визуализируется гомогенно в клетках очагов экстрамедуллярного кроветворения, синусоидальных клетках. Докраска гематоксилином, ув. ×100. . . . . С. 71
31. Рисунок 31 – Количество (%) непаренхиматозных клеток печени, экспрессирующих MMP-9, у мышей линий CBA и C57Bl/6, подвергнутых ХВУГ. . . . . С. 72
32. Рисунок 32 – Количество (%) непаренхиматозных клеток печени, экспрессирующих TIMP-1, у мышей линий CBA и C57Bl/6, подвергнутых ХВУГ. . . . . С. 72
33. Рисунок 33 – Соотношение количества (%) непаренхиматозных клеток печени, экспрессирующих MMP-9 и TIMP-1, у мышей линий CBA и C57Bl/6, подвергнутых ХВУГ. . . . . С. 73
34. Рисунок 34 – Численная плотность (Na_i) митохондрий КК у новорожденных мышей линий C57Bl/6 и CBA, внутриутробно инфицированных *C. albicans*. . . . . С. 83
35. Рисунок 35 – Объемная (Vv) плотность митохондрий КК у новорожденных мышей линий C57Bl/6 и CBA, внутриутробно инфицированных *C. albicans*. . . . . С. 83

36. Рисунок 36 – Поверхностная (Sv) плотность митохондрий в КК у новорожденных мышей линий C57Bl/6 и CBA, внутриутробно инфицированных *C. albicans*. . . . . С. 84
37. Рисунок 37 – Соотношение показателей величин поверхностной (Sv) и объемной (Vv) плотностей митохондрий в КК у новорожденных мышей линий C57Bl/6 и CBA, внутриутробно инфицированных *C. albicans*. . . . . С. 84
38. Рисунок 38 – Объемная плотность (Vv, %) ГЭПС в КК у новорожденных мышей линий C57Bl/6 и CBA, внутриутробно инфицированных *C. albicans*. . . . . С. 86
39. Рисунок 39 – Поверхностная плотность (Sv, мкм^2/мкм^3) ГЭПС в КК у новорожденных мышей линий C57Bl/6 и CBA, внутриутробно инфицированных *C. albicans*. . . . . С. 86
40. Рисунок 40 – Соотношение показателей величин поверхностной (Sv) и объемной (Vv) плотностей ГЭПС в КК новорожденных мышей линий C57Bl/6 и CBA, внутриутробно инфицированных *C. albicans*. . . . . С. 87
41. Рисунок 41 – Численная плотность (N_{ai}) прикрепленных рибосом (в тестовой площади) ГЭПС в КК у новорожденных мышей линий C57Bl/6 и CBA, внутриутробно инфицированных *C. albicans*. . . . . С. 87
42. Рисунок 42 – Фаголизосомы в КК у новорожденных мышей линии C57B1/6, внутриутробно инфицированнх *C. albicans*. Электронограмма, ув. ×5600. . . . . С. 89
43. Рисунок 43 – Объемная плотность (Vv, %) первичных лизосом в КК у новорожденных мышей линий C57B1/6 и CBA, внутриутробно инфицированных *C. albicans*. . . . . С. 90
44. Рисунок 44 – Численная плотность (Na_i) вторичных лизосом (фаголизосом) в КК у новорожденных мышей линий C57B1/6 и CBA, внутриутробно инфицированных *C. albicans*. . . . . С. 91

45. Рисунок 45 – Объемная плотность (Vv, %) вторичных лизосом (фаголизосом) в КК у новорожденных мышей линий С57В1/6 и СВА, внутриутробно инфицированных *C. albicans*. . . . . С. 91
46. Рисунок 46 – Дрожжевые клетки и мицелий *C. albicans* в печени новорожденной мыши линии СВА, внутриутробно инфицированной. Окраска по Шабадашу. Ув. ×200. . . . . С. 94
47. Рисунок 47 – Дрожжевые клетки и мицелий *C. albicans* в легких новорожденной мыши линии С57В1/6, внутриутробно инфицированной. Окраска по Шабадашу. Ув. ×200. . . . . С. 95
48. Рисунок 48 – Печень новорожденной мыши линии С57В1/6, внутриутробно инфицированной *C. albicans*: дистрофические изменения в гепатоцитах, очаги микронекрозов, многочисленные очаги экстрамедуллярного кроветворения. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. ×200. . . . . С. 95
49. Рисунок 49 – Количество клеток (%), экспрессирующих ММР-9 в печени мышей линий СВА и С57Bl/6, внутриутробно инфицированных *C. albicans*. . . . . С. 97
50. Рисунок 50 – Количество клеток (%), экспрессирующих TIMP-1 впечени мышей линий СВА и С57Bl/6, внутриутробно инфицированных *C. albicans*. . . . . С. 97
51. Рисунок 51 – Соотношение количества клеток (%), экспрессирующих ММР-9 и TIMP-1 в печени мышей линий СВА и С57Bl/6, внутриутробно инфицированных *C. albicans*. . . . . С. 98
52. Таблица 1 – Структура экспериментальных групп. . . . . С. 41
53. Таблица 2 – Характеристики антител, применявшихся в экспериментахи режимы для их использования. . . . . С. 43
54. Таблица 3 – Стереологические параметры, символы, сокращения, использованные в работе. . . . . С. 46
55. Таблица 4 – Масса тела контрольных новорожденных мышей линий СВА и С57В1/6 (M ± m). . . . . С. 49

56. Таблица 5 – Результаты морфометрического исследования вакуолярного аппарата КК у новорожденных мышей линий C57Bl/6 и CBA в условиях нормы (M ± m). . . . . С. 55
57. Таблица 6 – Масса тела (г) новорожденных мышей линий CBA и C57BL/6, подвергнутых хронической внутриутробной гипоксии (M ± m). . . . . С. 59
58. Таблица 7 – Масса тела (г) новорожденных мышей линий CBA и C57Bl/6, внутриутробно инфицированных C. *albicans* (M ± m). . . . С. 81

ПРИЛОЖЕНИЕ А

(обязательное)

Ультраструктурная организация клетки Купфера у новорожденных мышей линий СВА и С57Bl/6 в условиях нормы

Таблица А.1 – Результаты морфометрического исследования ультраструктурной организации клеток Купфера у новорожденных мышей линий С57Bl/6 и СВА в условиях нормы (M ± m)

Параметры исследования	Линии мышей	
	СВА	С57BL/6
Цитоплазма (Vv)	13,27 ± 0,35*	9,08 ± 0,18*
Митохондрии (Na_i)	2,99 ± 0,29*	1,59 ± 0,30*
Митохондрии (Vv)	14,57 ± 1,56	11,45 ± 0,97
Митохондрии (Sv)	2,12 ± 0,21	2,25 ± 0,29
Митохондрии (Sv/Vv)	0,13 ± 0,01*	0,22 ± 0,01*
Гранулярная ЭПС (Vv)	54,16 ± 1,56*	65,85 ± 1,34*
Гранулярная ЭПС(Sv)	5,97 ± 0,26*	11,38 ± 0,45*
Гранулярная ЭПС(S/Vv)	0,11 ± 0,003*	0,17 ± 0,003*
Прикрепленные рибосомы (Nai) (тестовая площадь At = 0,03 мкм^2)	1,54 ± 0,36*	4,18 ± 0,41*
Примечание: * достоверные межлинейные различия средних величин соответствующих параметров, $p < 0,05$.		

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

(обязательное)

Ультраструктурная организация клетки Купфера и характер экспрессии ММР-9 и TIMP-1 непаренхиматозными клетками печени у новорожденных мышей линий СВА и С57Bl/6, подвергнутых хронической внутриутробной гипоксии

Таблица Б.1 – Результаты морфометрического исследования ультраструктурной организации клетки Купфера новорожденных мышей линий С57Bl/6 и СВА, подвергнутых внутриутробной хронической гипоксии (M ± m)

Параметры исследования	Группы мышей			
	контрольные		подвергнутые внутриутробной хронической гипоксии	
	СВА	С57BL/6	СВА	С57BL/6
Цитоплазма (Vv)	13,27 ± 0,35*	9,08 ± 0,18*	13,26 ± 0,45^{b}	13,27 ± 0,35$^{\#b}$
Митохондрии (Na_i)	2,99 ± 0,29*	1,59 ± 0,30*	1,09 ± 0,25	1,50 ± 0,22
Митохондрии (Vv)	14,57 ± 1,56	11,45 ± 0,97	10,80 ± 1,29	10,34 ± 1,13
Митохондрии (Sv)	2,12 ± 0,21	2,25 ± 0,29	1,78 ± 0,24	1,95 ± 0,22
Митохондрии (Sv/Vv)	0,13 ± 0,01*	0,22 ± 0,01*	0,16 ± 0,005*	0,18 ± 0,006*$^{\#}$
Гранулярная ЭПС (Vv)	54,16 ± 1,56*	65,85 ± 1,34*	51,29 ± 2,23^{b}	52,47 ± 1,73
Гранулярная ЭПС (Sv)	5,97 ± 0,26*	11,38 ± 0,45*	5,90 ± 0,42	6,02 ± 0,32$^{\#}$
Гранулярная ЭПС (S/Vv)	0,11 ± 0,003*	0,17 ± 0,003*	0,11 ± 0,002	0,11 ± 0,002$^{\#}$
Прикрепленные рибосомы (Nai) (тестовая площадь At = 0,03 мкм^2)	1,54 ± 0,36*	4,18 ± 0,41*	1,25 ± 0,27	1,81 ± 0,20$^{\#}$

Примечание: * – достоверные межлинейные различия средних величин соответствующих параметров. $p < 0,05$. # – достоверные различия между средними величинами, соответствующих параметров, у мышей в опытной группе и в группе контроля, $p < 0,05$. b – достоверные различия величин соответствующих параметров у мышей одной линии, но перенесших разную внутриутробную патологию, ХВУГ и ВКИ, $p < 0,05$.

Таблица Б.2 – Результаты морфометрического исследования вакуолярного аппарата клеток Купфера у новорожденных мышей линий С57В1/6 и СВА, подвергнутых внутриутробной хронической гипоксии (M ± m)

Параметры исследования	Группы мышей			
	контрольные		подвергнутые внутриутробной хронической гипоксии	
	СВА	С57BL/6	СВА	С57BL/6
Первичные лизосомы (Nai)	0,26 ± 0,10	0,40 ± 0,17	0,21 ± 0,12	0,05 ± 0,02#
Первичные лизосомы (Vv)	1,73 ± 0,36	2,45 ± 0,45	3,16 ± 0,33*#	1,92 ± 0,12*b
Вторичные лизосомы / фаголизосомы (Nai)	4,28 ± 0,76	5,50 ± 0,96	1,75 ± 0,46#	1,88 ± 0,21#
Вторичны лизосомы/ фаголизосомы (Vv)	15,27 ± 2,26	12,98 ± 1,64	22,15 ± 4,16	22,71 ± 3,13#
Примечание: * – достоверные межлинейные различия средних величин соответствующих параметров, $p < 0,05$. # – достоверные различия между средними величинами, соответствующих параметров, у мышей в опытной группе и в группе контроля, $p < 0,05$.				

Таблица Б.3 – Уровень экспрессии (%) MMP-9 и TIMP-1 клетками печени мышей линий CBA и C57Bl/6, подвергнутых внутриутробной хронической гипоксии (M ± m)

Локализация	MMP-9		TIMP-1		MMP-9 / TIMP-1	
	CBA	C57BL/6	CBA	C57BL/6	CBA	C57Bl/6
Гепатоциты	0,78 ± 0,37	0,02 ± 0,01	0,39 ± 0,12	0,04 ± 0,01	2,08 ± 1,31	0,49 ± 0,18
Клетки очагов экстрамедуллярного кроветворения	13,44 ± 0,70*	0,68 ± 0,05*	15,04 ± 0,40*	0,51 ± 0,07*	0,89 ± 0,02*	1,42 ± 0,15*
Синусоидальные клетки, включая клетки Купфера	3,08 ± 0,33*	0,62 ± 0,07*	3,48 ± 0,19*	0,35 ± 0,07*	0,88 ± 0,06*	2,18 ± 0,43*
Суммарный показатель	17,32 ± 0,68*	1,71 ± 0,22*	18,89 ± 0,42*	0,89 ± 0,14*	0,92 ± 0,02*	1,74 ± 0,20*
Примечание: * – достоверные межлинейные различия средних величин соответствующих параметров, $p < 0,05$.						

ПРИЛОЖЕНИЕ В

(обязательное)

Ультраструктурная организация клетки Купфера и характер экспрессии ММР-9 и TIMP-1 непаренхиматозными клетками печени у новорожденных мышей линий СВА и С57Bl/6, внутриутробно инфицированных С. *albicans*

Таблица В.1 – Результаты морфометрического исследования ультраструктурной организации клетки Купфера у новорожденных мышей линий С57Bl/6 и СВА, внутриутробно инфицированных *C. albicans* (M ± m)

Параметры исследования	Группы мышей			
	котрольные		внутриутробно инфицированные *C. albicans*	
	СВА	С57BL/6	СВА	С57BL/6
Цитоплазма (Vv)	13,27 ± 0,35*	9,08 ± 0,18*	10,74 ± 0,24$^{\#b}$	8,80 ± 0,13$^{\#b}$
Митохондрии (N*a*i)	2,99 ± 0,29*	1,59 ± 0,30*	1,21 ± 0,23$^{\#}$	1,11 ± 0,18
Митохондрии (Vv)	14,57 ± 1,56	11,45 ± 0,97	11,72 ± 1,20	11,15 ± 1,35
Митохондрии (Sv)	2,12 ± 0,21	2,25 ± 0,29	1,59 ± 0,19	1,96 ± 0,21
Митохондрии (Sv/Vv)	0,13 ± 0,01*	0,22 ± 0,01*	0,15 ± 0,006*	0,17 ± 0,006$^{\#}$*
Гранулярная ЭПС (Vv)	54,16 ± 1,56*	65,85 ± 1,34*	41,20 ± 2,55*$^{\#b}$	51,32 ± 2,03$^{\#}$*
Гранулярная ЭПС (Sv)	5,97 ± 0,26*	11,38 ± 0,45*	4,78 ± 0,34*$^{\#}$	6,43 ± 0,35*$^{\#}$
Гранулярная ЭПС (Sv/Vv)	0,11 ± 0,003*	0,17 ± 0,003*	0,11 ± 0,002*	0,12 ± 0,003*$^{\#}$
Прикрепленные рибосомы (Nai) (тестовая площадь At = 0,03 мкм^2)	1,54 ± 0,36*	4,18 ± 0,41*	1,70 ± 0,39	1,81 ± 0,21^{a}

Примечание: * – достоверные межлинейные различия средних величин соответствующих параметров, $p < 0,05$. # – достоверные различия между средними величинами, соответствующих параметров, у мышей в опытной группе и в группе контроля, $p < 0,05$. b – достоверные различия величин соответствующих параметров у мышей одной линии, но перенесших разную внутриутробную патологию, ХВУГ и ВКИ, $p < 0,05$.

Таблица В.2 – Результаты морфометрического исследования вакуолярного аппарата клетки Купфера новорожденных мышей линий C57BL/6 и CBA, внутриутробно инфицированных C. *albicans* (M ± m)

Параметры исследования	Группы мышей			
	контрольные		внутриутробно инфицированные *C. albicans*	
	CBA	C57BL/6	CBA	C57BL/6
Первичные лизосомы (Nai)	0,26 ± 0,10	0,40 ± 0,17	0,05 ± 0,03	0,12 ± 0,08
Первичные лизосомы (Vv)	1,73 ± 0,36	2,45 ± 0,45	0,17 ± 0,06*$^{\#b}$	0,91 ± 0,08*$^{\#b}$
Вторичные лизосомы / фагосомы (Nai)	4,28 ± 0,76	5,50 ± 0,96	1,54 ± 0,17$^{\#}$	2,09 ± 0,37$^{\#}$
Вторичны лизосомы/ фаголизосомы (Vv)	15,27 ± 2,26	12,98 ± 1,64	24,308 ± 2,28*	39,52 ± 3,68*$^{\#b}$

Примечание: * – достоверные межлинейные различия средних величин соответствующих параметров, $p < 0,05$. # – достоверные различия между средними величинами, соответствующих параметров, у мышей в опытной группе и в группе контроля ($p < 0,05$). В – достоверные различия величин соответствующих параметров у мышей одной линии, но перенесших разную внутриутробную патологию, ХВУГ и ВУКИ ($p < 0,05$).

Таблица В.3 – Уровни экспрессии (%) MMP-9 и TIMP-1 клетками печени у новорожденных мышей линий CBA и C57Bl/6, внутриутробно инфицированных C. *albicans*

Локализация	MMP-9		TIMP-1		MMP-9 / TIMP-1	
	CBA	C57Bl/6	CBA	C57Bl/6	CBA	C57Bl/6
Гепатоциты	0,04 ± 0,02	0 ± 0	0,07 ± 0,02	0,05 ± 0,05	0,58 ± 0,03	0 ± 0
Клетки очагов экстрамедуллярного кроветворения	7,85 ± 0,50*[b]	1,69 ± 0,06*[b]	6,62 ± 0,46*	2,92 ± 0,51*	1,23 ± 0,15*[b]	0,57 ± 0,08*[b]
Синусоидальные клетки, включая клетки Купфера	1,26 ± 0,05*[b]	1,05 ± 0,05*[b]	1,04 ± 0,14[b]	1,37 ± 0,12	1,44 ± 0,12*[b]	0,77 ± 0,04*[b]
Суммарный показатель	9,19 ± 0,43*	2,79 ± 0,06*	7,81 ± 0,51*	4,37 ± 0,47*	1,20 ± 0,13*[b]	0,65 ± 0,08*[b]

Примечание: * – достоверные межлинейные различия средних величин соответствующих параметров, $p < 0,05$. b – достоверные различия величин соответствующих параметров у мышей одной линии, но перенесших разную внутриутробную патологию, ХВУГ и ВУКИ ($p < 0,05$).