

УДК - 616.36 - 008811.5: 616.6

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ОРГАНОВ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОЙ И МОЧЕПОЛОВОЙ СИСТЕМ 45-СУТОЧНЫХ КРЫСЯТ, РОДИВШИХСЯ ОТ САМОК С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ХОЛЕСТАЗОМ

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

Кафедра гистологии и эмбриологии

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Эксперимент проведен на 13 крысятах 45-суточного возраста, 7 из которых родились от самок с экспериментально вызванным на 12-ые сутки беременности обтурационным холестазом. В результате применения в комплексе гистологических, цитохимических, морфометрических и биохимических методов исследования установлено, что холестаз у матери, возникающий в период обособления зачатков органов у эмбрионов, вызывает у потомства в пубертатном периоде тенденцию к снижению массы большинства органов, задержку структурной и цитохимической дифференцировки клеточных элементов паренхимы органов пищеварительной, мочевыделительной и половой систем, сопровождаемых в последних нарушении прооксидантно-антиоксидантного равновесия в сторону усиленного радикалообразования. Выраженность указанных изменений в разных органах неоднозначна и зависит от степени дифференцированности клеток паренхимы и их функционирования.

Ключевые слова: беременность, холестаз, потомство, органы.

The experiment was carried out on 13 45-day-old rats, of these 7 were born from rats with obturational cholestasis, experimentally induced on 12th day of pregnancy. Using a complex of histologic, cytochemical, morphometric and biochemical methods of investigation, we found out that the maternal cholestasis developing at the beginning of embryonal organ preformation resulted in the tendency to lower organ weight (for the majority of organs) and retarded structural and cytochemical differentiation of parenchymal cells in digestive and urogenital systems accompanied by the enhanced free radical formation in litter in pubertal period. Such changes are different in different organs and depend on differentiation degree of parenchymal cells and their functioning.

Key words: pregnancy, cholestasis, litter, organs.

Аналитический обзор

Желчные кислоты являются единственным специфическим компонентом желчи. Им приписывают роль поверхностно-активных веществ и благодаря высокой мобильной способности встраиваться в липидный комплекс мембран, они могут оказывать существенное влияние на течение мембранных процессов и функции клеток в целом [1].

По данным литературы, число беременных, страдающих холециститом, желчнокаменной болезнью, осложненных зачастую впоследствии холестазом, постоянно растет [10, 15]. Нарушение оттока желчи изнутрипеченочных желчных ходов сопровождается повышением в сыворотке крови активности щелочной фосфатазы, содержания холестерина, билирубина и особенно желчных кислот (в 10-100 раз) [14, 15]. Установлено, что при нарушении энтерогепатической циркуляции во взрослом организме (холестаз, ахолия) происходит накопление продуктов ПОЛ [10, 21] и развитие выраженных структурных и метаболических изменений в большинстве паренхиматозных органов [4, 7, 12]. Характер изменений, происходящих в органах потомства, родившегося от матерей с заболе-

ваниями печени, сопровождаемых холестазом, изучен недостаточно [2, 8]. Между тем известно, что последний для матерей серьезной угрозы не представляет, но оказывает резко отрицательное воздействие на плод [15, 18, 20]. Установлено, что холестаз, вызванный на 12-ые сутки беременности, т.е. в период завершения обособления у эмбрионов зачатков органов, вызывает у потомства на 15-ые сутки после рождения не только задержку прироста массы тела и его физического развития, но и структурно-цитохимическую дифференцировку клеток паренхимы органов пищеварительной и мочеполовой систем [5, 8]. Каков характер этих изменений у потомства в дальнейшие сроки развития, пока не изучено.

Исходя из важности затронутой проблемы не только в социальном, но и в научно-практическом плане, была поставлена цель установить структурные и цитохимические особенности органов пищеварительной и мочеполовой систем у 45-суточных крысят, родившихся от самок с экспериментально вызванным на 12-ые сутки беременности обтурационным холестазом.

Материал и методы

Эксперимент проведен на 13 крысах 45-суточного возраста, 7 из которых родились от самок с экспериментально вызванным на 12-ые сутки беременности обтурационным холестазом, путем наложения лигатуры на верхнюю часть общего желчного протока. Другие 6 крысят, родившиеся от самок, подвергшихся лапаротомии без наложения лигатуры на общий желчный проток, были контрольными. Всего в опыте использовано 26 беременных самок. Опытные и контрольные крысята находились под тщательным наблюдением и в одинаковых условиях содержания. На 45-ые сутки после рождения их взвешивали, умерщвляли парами эфира, забирали органы пищеварительной и мочеполовой систем и после определения их массы вырезались кусочки. Часть из них после фиксации в жидкости Карнуа заключали в парафин. Парафиновые срезы толщиной 5-6 мкм окрашивались гематоксилином и эозином для гистологических исследований с последующим морфометрическим анализом при помощи системы «Bioscan». Срезы толщиной 10 мкм использовались для определения в структурах органов содержания и локализации гликопротеинов, гликозаминогликанов и рибонуклеопротеидов [9].

Другие кусочки сразу после взятия погружались в жидкий азот с последующим монтированием в криостате при температуре -15°C на объектодержатели по принципу «контроль-опыт». Изготовленные криостатные срезы толщиной 10 мкм использовались для определения в клетках паренхимы изучаемых органов активности оксидоредуктаз (СДГ, ЛДГ, НАДН-ДГ) и фосфатаз (КФ, ЩФ). Все гистохимические реакции сопровождались бессубстратными контролями [9].

В гомогенатах органов определялись продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ) – диеновые конъюгаты [11], основания Шиффа [17] и факторы антиоксидантной защиты – активность каталазы [6] и содержание витамина Е [13].

Полученный цифровой материал статистически обрабатывался на персональном компьютере с применением пакета программ «Statistica 6,0» для «Windows».

Результаты и их обсуждение

Проведенные исследования показали, что абсолютная масса 45-суточных крысят, как и масса их органов была меньше таковых у контрольных. Однако достоверные изменения имели место лишь в уменьшении массы почек и семенников (табл. 1).

Неоднозначны структурные, морфометрические и цитохимические параметры изучаемых органов.

В желудке опытных крысят толщина слизистой оболочки ($300,83 \pm 6,21$ мкм при $368,48 \pm 6,210$ в контроле), длина в ней собственных желез, как и общее количество входящих в их состав экзокри-

Таблица 1. Абсолютная масса 45-суточных животных и их органов

Показатели	Контроль	Опыт
Масса животных (г)	55,97±7,37	51,20±12,54
Поджелудочная железа (мг)	142,33±13,83	125,25±4,39
Печень (г)	2,50±0,18	2,03±0,27
Селезенка (мг)	187,0±14,62	132,33±24,74
Почка (мг)	251,75±8,63	210,0±4,91*
Надпочечники (мг)	8,21±0,24	8,25±0,55
Семенники (мг)	187,00±14,62	128,25±12,08*
Яичники (мг)	13,00±2,00	14,25±1,93

Примечание: * - показатели достоверны ($p < 0,05$).

ноцитов, число эпителиоцитов в желудочных ямочках достоверно меньше, нежели у контрольных животных. Притом в собственных железах изменен и количественный состав экзокриноцитов: число дифференцированных экзокриноцитов (главных, париетальных и мукоцитов) уменьшено, а малодифференцированных (шеечных) – наоборот, увеличено, несмотря на то, что среди них реже встречались митотически делящиеся формы (рис. 1).

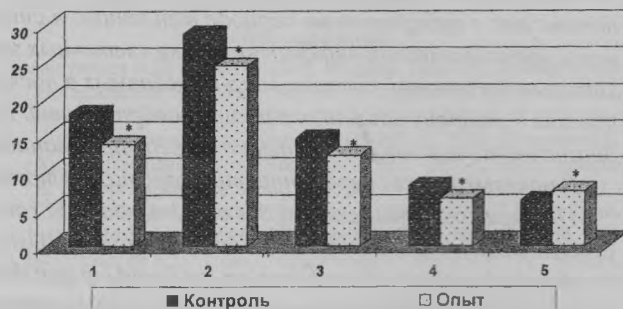


Рис. 1. Количественные и качественные показатели желудочных ямочек и собственных желез 45-суточных контрольных и опытных крысят.

1. Количество эпителиоцитов в желудочной ямочке.
2. Кол-во в собственной железе главных экзокриноцитов.
3. Кол-во париетальных экзокриноцитов. 4. Кол-во мукоцитов; 5. Кол-во шеечных клеток.

Примечание: * - показатели достоверны ($p < 0,05$).

Париетальные экзокриноциты отличались полиморфизмом и в большинстве сниженными оксифильными свойствами, иногда микровакуолизированной цитоплазмой. Главные экзокриноциты располагались в виде плотного конгломерата клеток в телах желез, имели меньшие размеры и, как правило, отличались сниженными базофильными свойствами базального отдела цитоплазмы. Сниженной оксифилией выделялась и цитоплазма поверхностно-ямочных эпителиоцитов. В некоторых участках слизистой их апикальные отделы цитоплазмы полностью лишались гранул гликопротеинов и гликозаминогликанов. Количество этих биополимеров, наоборот, было увеличено в поверхностной слизи, что свидетельствует о более значительной активации в эпителиоцитах в этих условиях фазы экстрюзии биополимеров, нежели фазы их синтеза. Вероятно, этому способствует сниженная в эпителиоцитах опытных крысят, по сравнению с контрольными, активность СДГ, ЛДГ и

НАДН-ДГ. Уменьшение активности оксидоредуктаз имело место в главных и, особенно, в париетальных экзокриноцитах. Однако выраженность последних была неоднозначной даже у одного типа экзокриноцитов, что связано, вероятно, с неодинаковой степенью их дифференцировки. Незначительно меньшим в цитоплазме главных экзокриноцитов было и содержание рибонуклеопротеидов.

Активность КФ у опытных животных, наоборот, была увеличенной, и не только в эпителиоцитах, но и в экзокриноцитах собственных желез желудка.

У 45-суточных крысят контрольной группы все структурные компоненты слизистой двенадцатиперстной кишки хорошо развиты. У опытных крысят ворсинки и покрывающие их каемчатые эпителиоциты были достоверно меньшей высоты. В последних едва заметно под большим увеличением микроскопа прослеживалась щеточная каемка. Отмечалась тенденция к укорочению глубины крипт, уменьшению высоты их эпителиоцитов и к уменьшению толщины мышечной оболочки (рис. 2).

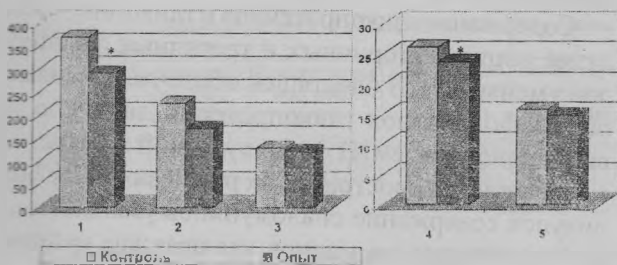


Рис. 2. Морфометрические параметры структур двенадцатиперстной кишки.

1. Высота ворсинок. 2. Длина крипт. 3. Толщина мышечной оболочки. 4. Высота эпителиоцитов ворсинок. 5. Высота эпителиоцитов крипт.

Примечание: * - показатели достоверны ($p < 0,05$).

В собственной пластинке слизистой оболочки встречались очаги лимфоидной инфильтрации, чего не наблюдалось у контрольных животных. У опытных крысят в надъядерной зоне эпителиоцитов ворсинок и, в меньшей степени, крипт отмечалось снижение активности СДГ, КФ и увеличение активности ЛДГ. Последнее может свидетельствовать об уменьшении темпов пристеночного и внутриклеточного пищеварения в эпителиоцитах опытных животных. В бокаловидных клетках крипт и ворсинок, в экзокриноцитах дуоденальных желез, как в пленке поверхностной слизи, заметно уменьшалось содержание гликопротеинов.

Структурно-функциональная организация поджелудочной железы у 45-суточных животных контрольной группы приближалась к дефинитивной. По сравнению с 15-суточными животными уменьшалось содержание междольковой и внутريدольковой соединительной ткани, а содержание экзок-

ринной паренхимы, вследствие увеличения размеров ацинусов и их новообразований, наоборот, возрастало. Отмечалось увеличение размеров и эндокринных островков, что приводило к увеличению объемной доли эндокринной паренхимы в железе. В ацинарных клетках становятся четко различимы гомогенная и зимогенная зоны. Содержание в них РНК, фосфолипидов и активность оксидоредуктаз почти соответствовало таковому у взрослых.

Поджелудочная железа у 45-суточных опытных крысят обнаруживала признаки отставания в развитии. Сниженной до нижних границ нормы была абсолютная масса органа, однако соотношение в органе соединительнотканной стромы и паренхимы приближалось к таковому у контрольных животных. Размеры ацинусов, панкреатитов и их характерных зон несколько уменьшены (рис. 3). Граница между гомогенной и зимогенной зонами нечеткая.



Рис. 3. Структурные показатели экзокринного отдела поджелудочной железы 45-суточных животных по данным морфометрии.

1. Размер ацинусов в (мм). 2. Высота ацинарных клеток. 3. Высота зимогенной зоны. 4. Высота гомогенной зоны.

Снижены и цитохимические свойства ацинарных клеток: активность СДГ и восстановленного НАДН-ДГ, как и содержание рибонуклеопротеидов и фосфолипидов в гомогенной и зимогенной зонах панкреатоцитов низкое, а активность в них ЛДГ, наоборот, выше, чем у контрольных животных. Уменьшено также число межацинарных кровеносных капилляров и диаметр их просвета. Активность в их эндотелиоцитах щелочной фосфатазы заметно снижена.

Плотность расположения и размеры эндокринных островков в опыте отличались от таковых в контроле. Однако В-клетки у последних выделялись высокой активностью кислой фосфатазы и сниженной активностью изучаемых оксидоредуктаз.

Что касается почек, несмотря на снижение у опытных крысят их абсолютной массы, выраженных структурных изменений в них со стороны клубочкового и канальцевого отделов как корковых, так и юкстагломерулярных нефронов не наблюдалось. Однако, как показал морфологический анализ, все структурные компоненты нефронов у 45-

Таблица 2. Показатели структур нефронов почек 45-суточных крысят по данным морфометрии

Показатели (мкм)	Контроль	Опыт
Диаметр почечных телец	60,48±1,24	58,68±0,80
Диаметр сосудистых клубочков	54,10±0,97	50,58±1,63
Диаметр проксимальных отделов	24,70±0,95	24,57±0,31
Высота их эпителиоцитов	8,53±0,21	8,42±0,54
Диаметр ядер эпителиоцитов	5,25±0,26	5,11±0,18
Диаметр дистальных отделов	16,95±0,08	16,48±2,15
Высота их эпителиоцитов	5,53±0,02	5,68±0,53
Диаметр ядер эпителиоцитов	4,40±0,15	4,60±0,05

суточных животных, родившихся в условиях холестаза, были, как правило, незначительно меньшими.

Незначительно изменены и цитохимические свойства структур нефронов. В цитоплазме эпителиоцитов проксимальных и дистальных отделов корковых и юкстамедуллярных нефронов активность СДГ, НАДН-ДГ и ЩФ снижена, а ЛДГ и КФ-азы, наоборот, увеличена по сравнению с таковой у контрольных животных. Притом продукты реакции у опытных животных становились весьма крупноглыбчатыми. Необходимо отметить, что изменения активности ферментов неоднозначны даже в эпителиоцитах смежных нефронов, что, вероятно, обусловлено различной степенью их дифференцировки и, следовательно, разной функциональной активностью. Последнее подтверждается и менее выраженной у опытных животных ШИК-положительной реакцией щеточной каемки эпителиоцитов проксимальных отделов нефронов. ШИК-положительная реакция базальных мембран эпителиоцитов проксимальных и дистальных отделов нефронов у опытных животных практически не отличалась от таковой в контроле.

В яичниках опытных крысят, масса которых проявляла тенденцию к увеличению, имело место статистически достоверное уменьшение общего числа фолликулов на единицу площади коркового вещества. Притом это происходило преимущественно за счет уменьшения числа примордиальных и растущих фолликулов. Существенно меньшими были диаметры ооцитов, их ядер и размеры самих фолликулов. В последних значительно меньше и фолликулярных клеток. Количество третичных фолликулов существенно не отличалось от такового в контроле, но последние имели малые размеры, как и их ооциты, и содержали также значительно меньшее количество фолликулярных клеток. Ооциты вторичных и третичных фолликулов, как правило, содержали меньше гранул вителлина, которые распределялись в ооплазме неравномерно. Оксифильные свойства клеток снижены. Тека во вторичных и третичных фолликулах, как правило, отечна, разрыхлена с отчетливо выделяющимися слоями. Просветы кровеносных капилляров во внутреннем слое теки расширены, чис-

Таблица 3. Структурные особенности яичников 45-суточных контрольных и опытных животных по данным морфометрии

Показатели	Контроль	Опыт
Общее число фолликулов в поле зрения (20x7)	14,89±0,46	12,48±0,29*
Из них:		
примордиальных	6,65±0,45	3,52±0,40*
растущих	4,95±0,29	3,40±0,32*
диаметр их ооцита (в мкм)	30,41±0,06	26,15±1,09*
вторичных	2,19±0,19	1,90±0,20
диаметр их ооцита (в мкм)	47,71±1,39	30,5±0,35*
диаметр ядра фолликулярных клеток (мкм)	5,74±0,09	4,96±0,07*
третичных	0,30±0,09	0,36±0,15
диаметр ооцита (мкм)	53,5±2,5	35,33±1,52*
диаметр ядра фолликулярных клеток (мкм)	6,19±0,15	4,72±0,13*
атретических	1,38±0,15	4,84±0,41*
количество желтых тел (20x7)	0,28±0,20	0,12±0,14*
количество белых тел (20x7)	0,19±0,0	0,20±0,08

Примечание: * показатели достоверны (p<0,05)

ленная плотность между ними интерстициальных клеток, как правило, существенно не отличалась от таковой в контроле. Количество атретических фолликулов в яичнике опытных крысят, наоборот, увеличено.

Между фолликулами отмечено разрастание плотной соединительной ткани. Желтые тела не только в опыте, но и в контроле встречались редко и, как правило, находились в первой или второй фазе развития. Редко встречались и белые тела.

Содержание гликопротеинов и гликогена в ооплазме ооцитов вторичных и третичных фолликулов уменьшено. В блестящей оболочке развивающихся фолликулов гликопротеины зачастую не выявлялись совсем. В фолликулярной жидкости в межклеточных пространствах развивающихся фолликулов содержание сиаломуцинов уменьшено, а количество сульфомуцинов, как правило, незначительно возросло.

Изменена и активность ферментов, притом последнее наиболее выражено в цитоплазме фолликулярных и интерстициальных клеток развивающихся структур яичника. Так, у них во вторичных, третичных и атретических фолликулах, развивающихся желтых телах активность СДГ, ЛДГ, НАДН-ДГ снижена. В цитоплазме ооцитов, фолликулярных клетках растущих фолликулов изменения активности ферментов аналогичны, но незначительны. Активность КФ в этих структурах, наоборот, увеличена. Увеличена активность КФ и в лютеоцитах развивающихся желтых тел.

Задерживается развитие структур яйцеводов, матки и становление их цитохимических свойств. Подтверждением вышесказанного является уменьшение в яйцеводах 45-суточных опытных животных числа складок слизистой, длины и высоты выстилающих их эпителиоцитов (рис. 4). В апикальном отделе последних, как и в пленке поверхностной слизи, уменьшено содержание гликопротеинов. В эпителиоцитах снижена и активность оксидоредуктаз.

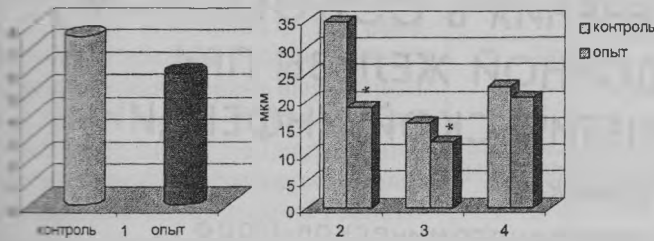


Рис. 4. Структура развивающихся яйцеводов контрольных и опытных животных по данным морфометрии.

1. Количество складок. 2. Длина складок. 3. Высота эпителиоцитов. 4. Толщина мышечной оболочки. Примечание: * - показатели достоверны (p < 0,05).

В слизистой матки уменьшено количество развивающихся маточных желез и их длина. Высота эпителия слизистой матки, как и толщина миометрия, существенно не отличались от контроля.

Изменены и показатели перекисного окисления липидов. Последние представлены на примере данных гомогенатов почек в таблице 4.

Таблица 4. Содержание продуктов ПОЛ в гомогенатах почек 45-суточных животных, М±m

	Концентрация диеновых конъюгатов (нМоль/мл)	Концентрация оснований Шиффа (Ед/мл)	Концентрация витамина Е (мМоль/л)	Активность каталазы (мМоль/мл мин)
Контроль	14,23±0,4	252,13±14,53	17,60±0,62	1,81±0,03
Опыт	17,54±0,85 <0,05	256,25±8,07 <0,5	15,63±0,99 <0,2	2,29±0,1 <0,001

Представленные в таблице увеличения концентрации диеновых конъюгатов и оснований Шиффа, хотя и с низкой достоверностью, свидетельствует о накоплении в органе первичных и вторичных продуктов ПОЛ. Уменьшение же в гомогенате концентрации витамина Е говорит о снижении в органе антиоксидантной защиты.

Таким образом, результаты проведенных исследований доказывают, что модулируемый на 12-ые сутки беременности обтурационный холестаз вызывает нарушение прооксидантно-антиоксидантного равновесия (на примере почки), что в свою очередь вызывает в органах пищеварительной и мочеполовой систем не только задержку структурной и цитохимической дифференцировки клеток паренхимы, но и развитие в последних незначительных дистрофических изменений.

Литература

Ганиткевич Я. В. Роль желчи и желчных кислот в физиологии и патологии организма // Киев: Наукова думка – 1980. – 180 с.
 Рицок Р. И. Особенности развития детей при хронических заболеваниях печени у матери // Педиатрия. – 1970. – С. 59-61.
 [ахно А. Н. Определение функционального состояния желчевыводящей системы у новорожденных детей первых дней жизни // Физиол. и биохим. аспекты патол. процессов: Сб. науч. тр. Витебск. мед. у-та. - Смоленск, - 1990. - С.44-46
 Кизюкевич Л. С., Туревский А. А., Шелестная Е. А. Показатели метаболизма почек при экспериментальном холестазе и последующей хирургической декомпрессии желчных путей // Морфология. – 2000. – Т. 117, №3. – С. 56-57.
 5. Кизюкевич Л.С., Мацюк Я.Р. Экстрапеченочный обтурационный холестаз матери и развитие организма потомства. //Педиатрия. – 2002. –№3. С. 75–78.
 6. Королук М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. Метод определения активности каталазы. // Лабор. дело 1988. – №1. – С. 16-19.
 7. Морфологические изменения фолликулов щитовидной железы в ранние сроки холестаза / Мацюк Я. Р., Туревский А.А., Кизюкевич Л.С., Морголь С.К. и др. // Весні АН Беларусі. – 1995. – №2. – С. 96-100.
 8. Структурные особенности органов пищеварительной и мочеполовой систем 15-суточного потомства, родившегося в условиях холестаза / Мацюк Я.Р., Кизюкевич Л.С., Закурдава М.Н., Михальчук Е.Ч. и др. // Ж. Гродн. гос. мед. ун-та. - 2004. - №3(7). - С. 22-25.
 9. Пирс А.Г. Гистохимия теоретическая и прикладная // М.: Иностранная литература. – 1962 - 962с.
 10. Желчекаменная болезнь и беременность: причинно-следственные взаимосвязи / Петухов В.А., Кузнецов М.Р., Лисин С.В., Кантемирова З.Р. // Анналы хирургии. – 1998. – №2. – С. 14-20.
 11. Стальная И.Д. Современные методы в биохимии. / Под ред. Ореховича В.М. Москва, Мед. – 1977. С. 63–69.
 12. Структурно-функциональные сдвиги при экспериментальной ахилии / Туревский А. А., Можейко Л. А., Кизюкевич Л. С., Емельянич С. В. и др. // Актуал. вопр. морфол. тез. докл. III съезда анат. гистол. эмбр. и топографоанатомов УССР. Черновцы. – 1990. – С. 321.
 13. Черняускине Р.Ч., Варшкявиче З.З., Грибаускас В.С. Одновременное определение концентраций витамина Е и витамина А в сыворотке крови. // Лабор. дело. – 1984. – №6. – С.362–365.
 14. Шехтман М. М. Экстрагенитальная патология и беременность // Л.: Медицина. – 1987. – 296 с
 15. Шехтман М. М., Коротыко Г. Ф., Бурков С. Г. Физиология и патология органов пищеварения у беременных // Ташкент: Медицина. – 1989. – 160 с.
 16. Serum squalene and noncholesterol sterols before and after delivery in normal and cholestatic pregnancy / Nokila K., Riikonen S., Lindfors M., Miettinen T. // J. Lipid Res. – 1996. – V 37. - N. 12. – P. 2687-2695.
 17. Fletcher B.I., Lillard C.D., Tappel A.L. Fluorescent products of lipid peroxidation of mitochondria and microsomes // Anal. Biochem. – 1973. – vol. 52. – N1. p. 1-9.
 18. Fuzi D., Corsello F. P., Piacentino R. // Minerva ginecol. – 1993. – V. 45. - N. -6. – P. 307-314.
 19. Kountourous S., Schener P., Billing B. Effect of prolonged bile duct obstruction in the rat on hepatic transport of bilirubin // Clin. Sci. – 1985 – V. 68. - N. 3. – P. 341-347.
 20. Colestasis intrahepatica del embarazo. Una enfermedad benigna / Plaza F. J., Diaz R. J., Pardo O., Perez C. // Rev. Esp. Enferm. Digest. – 1996. – V. 88. - N. 11. – P. 809-811.
 21. Sing Li, Yanbang Chi, Xuesun F. Zhongguo puwai sicu yu linchuang zazhi // Clun. S. Bases and Clin. Seery. – 1998. – V. 5 – N. 3 – P. 148-149.