

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ФЕТОПЛАЦЕНТАРНОГО КОМПЛЕКСА КРЫС НА ФОНЕ ТАБАЧНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

В работе представлены результаты исследования влияния табачной интоксикации на состояние фетоплацентарного комплекса белых крыс с использованием экспериментальной модели «пассивное курение». Выявлены патоморфологические признаки плацентарной недостаточности (уменьшение массы и толщины плацент; снижение числа плодовых капилляров и материнских синусов при уменьшении их диаметров; нарушениях кровообращения в виде резкого полнокровия, отека, кровоизлияний в лабиринтном слое плаценты; очаги ишемии и тромбоза материнских лакун с развитием крупных ишемических инфарктов; образование крупных очагов деструкции клеток трофобласта с формированием различного размера полостей и др.), которая способствовала задержке внутриутробного развития и появлению случаев эмбриональной гибели.

Ключевые слова: курение, фетоплацентарный комплекс, плацентарная недостаточность, крысы, внутриутробное развитие.

Актуальность проблемы курения в настоящее время обусловлена широким распространением этой вредной привычки среди женщин детородного возраста, беременных и кормящих матерей.

Материнское курение в течение беременности приводит к повышению риска задержки внутриутробного развития, гибели эмбриона, преждевременным родам и другим патологиям [9].

Сигаретный дым характеризуется многокомпонентностью химического состава, в числе которого значатся более 250 опасных для здоровья соединений [10]. У курящей беременной женщины вредные вещества табачного дыма (никотин, оксид углерода, цианистые соединения соли тяжелых металлов и др.) свободно проникают через плаценту, действуя на центральную нервную систему плода, нарушают активность ферментов, что наносит вред ребенку еще до его рождения [1], [4], [11]. Кроме того, основной компонент табачного дыма, никотин, обладая выраженными вазоконстрикторными свойствами, повышает резистентность сосудов матки и таким образом снижает кровоток, следствием чего является недостаточное поступление кислорода и питательных веществ к плоду, ведущее к гипоксии, при которой также характерна интенсификация оксидативных процессов [12].

Послед является провизорным органом, обеспечивающим развитие и рождение жизнеспособного плода. Плацента осуществляет доставку плоду кислорода, питательных веществ из крови матери, расщепление и синтез веществ на уровне трофобласта, продуцирует гормоны и выполняет барьерную функцию, то есть играет

ведущую роль в физиологии системы «мать—плацента—плод» [8]. Ее патология является причиной внутриутробной задержки развития плода, возникновения хронической гипоксии или вызывает перинатальную смертность [3].

В связи с вышеизложенным, задача исследования заключалась в изучении морфологического состояния фетоплацентарного комплекса белых крыс в условиях созданной модели «пассивного курения».

Материалы и методы

Экспериментальные исследования выполнены на 60 беременных самках белых крыс линии Wistar половозрелого возраста (6–7 мес.) и средней массой 130 ± 10 г. Животных содержали в условиях экспериментально-биологической клиники (виварий) Оренбургского государственного университета на стандартном рационе, со свободным доступом к воде и пище, при температуре 22 ± 10 С и 12-ти часовом освещении.

Исследования по установлению репродуктивной токсичности и эмбриотоксичности табачного дыма были проведены посредством экспозиции беременных самок крыс в атмосфере табачного дыма (модель «пассивного курения») согласно методическим рекомендациям [6] и опубликованным результатам экспериментальных исследований [13], [14].

Первый день беременности устанавливали на основании обнаружения сперматозоидов в вагинальных мазках самок.

В соответствии с задачами исследования экспериментальные животные были разделены на 2 группы: контрольную ($n=30$) и опытную

($n=30$). Опытные животные находились в условиях 30-минутного воздействия табачного дыма в затравочной камере. Контрольная группа – интактные животные, ежедневное пребывание в течение 30 минут в затравочной камере с отсутствием табачного дыма.

Для моделирования «пассивного курения» была использована пластиковая камера объемом 0,3 м³. Задымление камеры проводилось путем сгорания сигарет в специальном удерживающем устройстве. По мере сгорания сигареты, производилась их замена, тем самым обеспечивалось постоянное поступление дыма в затравочную камеру. Равномерное распределение дыма обеспечивалось вентилятором.

Расчет эквивалентной дозы никотина и времени экспозиции животных табачным дымом проводился на основании апробированной модели [7] и собственных расчетов: если в среднем среднестатистический курильщик выкуривает одну пачку (20 сигарет) в день, то в организм при этом попадает 20 мг никотина. Исходя из этого, эквивалентная доза никотина для крысы, от средней массы человека в 70 кг, составит 0,043 мг в день.

Учитывая расчетные данные, в затравочную камеру помещали по 5 животных. Задымление проводили в течение 30 минут путем сжигания 4-х сигарет. Подопытные крысы проходили процедуру «пассивного курения» 2 раза в сутки. Таким образом, одноживотное в эксперименте получало максимум 0,048 мг никотина, что соответствовало суточной дозе для человека.

Для проведения эксперимента использовали сигареты, содержащие в дыме вещества (согласно ГОСТ 3935-2000): смолы – 10 мг/сиг., никотин – 1 мг/сиг., СО – 12 мг/сиг.

После окончания каждого 30-минутного сеанса животных извлекали из затравочной камеры и содержали в санитарных условиях вивария.

На 21 день беременности, за день до предполагаемых родов, была проведена эвтаназия животных введением этиминал-натрия в дозе 60 мг/кг.

Для проведения морфологических исследований фетоплацентарного комплекса была проведена органометрия последов крыс с измерением следующих параметров: масса и толщина плаценты, площадь материнской поверхности с учетом показателя плодовитости крыс и параметров физического развития извлеченных плодов (массы и длины тела). Для изучения последов беременных крыс на тканевом уровне отобран-

ный материал был зафиксирован в 10%-ом нейтральном формалине с последующим приготовлением серийных парафиновых гистологических срезов, которые после депарафинации были окрашены гематоксилином и эозином. Гликопротеины выявлялись Шифф-реактивом с последующим контролем на гликоген обработкой амилазой. Кислые гликозаминогликаны выявляли альциановым синим при pH 2,5 [5].

В приготовленных гистологических срезах плаценты с помощью окулярной сетки были определены следующие морфометрические параметры: количество и диаметры плодовых капилляров и материнских синусов [2].

Полученные цифровые данные были обработаны с применением критерия Стьюдента для выявления статистически значимых различий.

Результаты исследований

Полученные результаты показали, что в среднем плодовитость крыс в опытной группе достоверно понизилась на 14,1% ($P \leq 0,05$), по сравнению с контрольными показателями. Наблюдалось также снижение среднего веса и длины плодов – на 14,9% ($P \leq 0,05$) и 22,4% ($P \leq 0,001$), соответственно, относительно контроля.

В группе животных, подвергнутых табачной интоксикации, было выявлено 4 мертвых плода. Наблюдалось также изменение основных морфометрических параметров плацент и их гистологического строения. Установлено уменьшение не только массы и толщины плацент, но и снижение числа плодовых капилляров и материнских синусов при уменьшении их диаметров. Масса плацент в среднем уменьшилась на 24,8 мг (5,2%), а толщина – на 7,9%, относительно контроля. Наблюдалось значительное снижение числа материнских синусов – на 23,4% ($P \leq 0,01$) (табл.)

Следует отметить наиболее часто встречающееся развитие в плацентах крыс опытной группы очагов расстройств кровообращения и воспалительных изменений.

В целом гистологическое исследование плацент сравнимых групп показало типичное строение основных тканевых структур данных органов.

В контрольной группе крыс хориальная пластинка плодной части плаценты тонкая, покрыта уплощенным цилиндрическим амниотическим эпителием, лежащим на мезодермальном основании с различным количеством полнокровных тонкостенных сосудов и небольшой клеточной

инфильтрацией вокруг клеток трофобласта. В спонгиозном слое внелабиринтного отдела трофобласта расположены гликогеновые островки с четкими границами, состоящие из крупных клеток со светлой, нередко пенистой цитоплазмой, пикнотичным ядром. При реакции с ШИК-реактивом эти клетки дают яркую окраску, которая значительно ослабевает после обработки срезов амилазой, что указывает на большое содержание в них гликогена. В трофобласте плацент наблюдается образование небольших полостей, чаще округлой формы.

В плацентах крыс опытной группы отмечено, что хориальная пластинка неравномерной толщины, чаще утолщена, с расширенными толстостенными кровеносными сосудами, неравномерным полнокровием, мелкими кровоизлияниями и усиленной клеточной инфильтрацией, переходящей на периваскулярную ткань.

Выявленные нарушения кровообращения часто сочетались со структурно-функциональной активизацией париетального трофобласта, что выражалось в неравномерной очаговой гиперплазии гигантских клеток, появлением их многоядерных форм. Отмечена неравномерность толщины слоя трофобласта, которая местами была увеличена, а в отдельных участках истончена с выявлением признаков пикноза и лизиса ядер, вакуолизацией цитоплазмы. Количество слоев при этом возросло до 6–8, в сравнении с 2–3 слоями в плаценте контрольной группы. Характерным для слоя трофобласта плацент опытной группы, являлось образование крупных очагов деструкции клеток с формированием различного размера полостей. В плаценте крыс опытной группы также выявлено расширение

площади спонгиозного нелабиринтного слоя с образованием крупных полнокровных материнских лакун, ограниченных тяжами эозинофильных полигональных клеток спонгиотрофобласта. Беспорядочно расположенные гликогеновые островки имели нарушенную структуру. Клетки в островках, в отличие от таковых плаценты контрольной группы, при визуальной оценке, содержали большее количество амилазоустойчивых мукополисахаридов. Лабиринтный слой плаценты, в котором, основными структурами являются плодовые капилляры и материнские лакуны, разделенные трехслойным трофобластом, в опытной группе значительно отличался от лабиринтного слоя плацент контрольной группы животных. Так, в плаценте контрольной группы лабиринтная зона состоит из большого числа полнокровных анастомозирующих фетальных капилляров, которые расположены в трофобластических балках, омываемых кровью материнских лакун. Материнские лакуны широкие и полнокровные, по сравнению с плодовыми сосудами. В экспериментальной группе с табачной интоксикацией, в лабиринтном слое плаценты наблюдалось развитие различных патологических изменений. Наиболее часто они выражались в нарушениях кровообращения в виде резкого полнокровия, отека, кровоизлияний. Нередко наблюдались очаги ишемии и тромбоза материнских лакун с развитием крупных ишемических инфарктов. В клетках трофобласта развивались дистрофические изменения, вплоть до их гибели.

Отмечено значительное отличие гистологического строения ворсинчатого дерева в плацентах контрольной и опытной групп. В плаценте контрольной группы стволы, якорные,

Таблица. Органометрические и морфофункциональные показатели последов и плодов

Показатели	Контрольная группа	Опытная группа
Количество плодов, шт.	7,80±0,20	6,70±0,30*
Масса плода, г	4,68±0,20	3,98±0,20*
Длина плода, см	4,90±0,08	3,80±0,06***
Масса плаценты, мг	476,20±7,40	451,40±9,20*
Площадь материнской поверхности, мм ²	210,40±0,69	190,60±0,48***
Толщина плаценты, мкм	22,75±1,20	20,95±1,40
Количество плодовых капилляров	14,70±0,70	12,60±0,40*
Количество материнских синусов	17,50±0,90	13,40±1,00**
Диаметр плодовых капилляров, мкм	0,90±0,02	0,76±0,04**
Диаметр материнских синусов, мкм	0,31±0,05	0,27±0,04

Примечание: * – P≤0,05; ** – P≤0,01; *** – P≤0,001.

промежуточные и терминальные ворсины полнокровные с активной пролиферацией синцитиотрофобласта, формированием дочерних ворсин. Особенно ярко эти изменения были выражены в терминальных ворсинах, в которых синцитиотрофобласт формирует синцитиальные почки; капилляры ворсинок широкие и полнокровные.

Изменения ворсинчатого дерева плацент опытной группы крыс были неравнозначными. В отдельных плацентах установлено, что ворсины всех уровней, в том числе ствольные и промежуточные, характеризуются полнокровием; часто выявлялись стазы и очаговые периваскулярные кровоизлияния. В части сосудов крупных ворсин обнаруживалось утолщение стенки сосудов с уменьшением просвета. Тем не менее, в строении этих полнокровных ворсин выявлялась повышенная клеточная пролиферация с явле-

ниями склероза на фоне слабой пролиферативной активности синцитиотрофобласта. В других отмечалось малокровие ворсин, снижение пролиферации синцитиотрофобласта с уменьшением образования почек.

Подводя итог вышеизложенному, можно констатировать, что выявленные патоморфологические изменения в плаценте, составляя структурную основу плацентарной недостаточности у беременных самок крыс, находящихся в условиях табачной интоксикации, являются причинами нарушения трофической, транспортной, метаболической и других функций плаценты. В свою очередь, плацентарная недостаточность способствовала задержке внутриутробного развития плодов с уменьшением их массы на 14,9%, длины тела на 22,4% и эмбриональной гибели у экспериментальных животных.

24.04.2014

Список литературы:

1. Алиджанова И.А., Нотова С.В., Кияева Е.В., Мирошников С.В., Нестеров Д.В. Оценка метаболических показателей и гормонального статуса в условиях стресса // Medline.ru. – 2012. Т. 13. – №3. – С. 748–753.
2. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
3. Гуляева, Н.И. Состояние фетоплацентарного комплекса у белых крыс после введения токсина стафилококка / Н.И. Гуляева, С.В. Мелехин, Е.Л. Кондрацкая, Г.Т. Валиулина, М.Р. Мухамедзянова // Успехи современного естествознания – 2006. – №12. – С. 51.
4. Дзюбайло, А.В. Влияние курения на реализацию репродуктивной функции женщин / А.В. Дзюбайло // Вестник СамГУ – Естественнонаучная серия. – 2010. – №6 (80). – С. 187–190.
5. Меркулов Г.А. Курс гистотехники. Л.: Агропромиздат, 1980. – 339 с.
6. Смольникова, Н.М., Методические указания по изучению репродуктивной токсичности фармакологических веществ. Руководство по экспериментальному доклиническому изучению новых фармакологических веществ [Текст] / Н.М. Смольникова, Б.И. Любимов, А.Д. Дурнев, А.М. Скосырева, Е.М. Чиркова, Т.А. Гуськова, И.В. Голованова, Р.Д. Сюбаев, О.Л. Верстакова. – М., 2005. – С. 87–100.
7. Соломина А.С. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук. 14.03.06 – фармакология клиническая фармакология, Москва, 2011., с.139.
8. Цинзерлинг В.А. Перинатальные инфекции. (Вопросы патогенеза, морфологической диагностики и клинико-морфологических сопоставлений). Практическое руководство / В.А. Цинзерлинг, В.Ф. Мельникова. – СПб.: Элби СПб, 2002. – 352 с.
9. Шабалова Н.П. Неонатология. – М.: «МЕДпресс-информ». – 2006. – Т.1. – С. 109–114.
10. Husgafvel-Pursiainen, K. Genotoxicity of environmental tobacco smoke: a review [Text] / K. Husgafvel-Pursiainen // Mutat Res. – 2004. – Vol. 567, №2–3. – P. 427–445.
11. Klonoff-Cohen H.S. et al. // Jama. – 1995. – Vol. 273. – P. 795.
12. Lips K.S. Nicotinic acetylcholine receptors in rat and human placenta [Text] / K.S. Lips, D. Bruggmann, U. Pfiel, et al. // Placenta. – 2005. – Vol. 26, №10. – P. 735–746.
13. Nelson, E. Maternal passive smoking during pregnancy and fetal developmental toxicity. Part 1: gross morphological effects [Text] / E. Nelson, K. Jodscheit, Y. Guo // Human and Experimental Toxicology. – 1999. – Vol. 18. – P. 252–256.
14. Nelson, E. Maternal passive smoking during pregnancy and fetal developmental toxicity. Part 2: histological changes [Text] / E. Nelson, C. Goubet-Wiemers, Y. Guo // Human and Experimental Toxicology. – 1999. – Vol. 18, №14. – P. 257–264.

Сведения об авторах:

Корнеев Геннадий Иосифович, научный консультант экспериментально-биологической клиники Оренбургского государственного университета, доктор медицинских наук, профессор

Лизурчик Людмила Владиславовна, аспирант института биоэлементологии Оренбургского государственного университета

Сипайлова Ольга Юрьевна, заведующий лабораторией медицинской биоэлементологии института биоэлементологии Оренбургского государственного университета, кандидат биологических наук

Лебедев Святослав Валерьевич, заведующий лабораторией сельскохозяйственной биоэлементологии Оренбургского государственного университета, доктор биологических наук

Шейда Елена Владимировна, научный сотрудник экспериментально-биологической клиники Оренбургского государственного университета, кандидат биологических наук

460018, г. Оренбург, пр. Победы, 13, e-mail: inst_bioelement@mail.ru; тел.: 8 (3532) 372482