

© Г. В. Брюхин, Р. К. Абдильдин, 2016
УДК 616.36:611.013.85:599.323.4

Г. В. Брюхин¹, Р. К. Абдильдин²

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АЛЛАНТОИДНОЙ ПЛАЦЕНТЫ КРЫСЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПОРАЖЕНИИ ПЕЧЕНИ

¹ Кафедра гистологии, эмбриологии и цитологии (зав. — проф. Г. В. Брюхин), Южно-Уральский государственный медицинский университет; ² кафедра микробиологии, иммунологии и общей биологии (зав. — проф. А. Л. Бурмистрова), Челябинский государственный университет

Целью исследования явился анализ особенностей морфологических изменений плаценты у крыс с экспериментальным хроническим поражением печени. У 3-месячных половозрелых крыс-самок моделировали поражение печени путем 2-кратного интрагастрального введения парацетамола в дозе 2,5 г/кг массы тела (лекарственная группа — $n=15$) и 1-кратного внутрибрюшинного введения D-галактозамина в дозе 250 мг/кг массы тела (токсическая группа — $n=15$). Контролем служили интактные крысы. Плаценту исследовали на 21-е сутки беременности с использованием гистологических и морфометрических методов. Пролиферативная активность плацентарных клеток изучена с помощью иммуноцитохимического метода с антителами к Ki-67. Исследована проницаемость мембран трофобласта различных компартментов. Установлено, что хроническая патология печени в условиях эксперимента обуславливает морфологические изменения в плаценте, что проявляется снижением площади ее лабиринтного отдела, материнских синусоидов базальной зоны, фетальных капилляров и материнских лакун лабиринта. Кроме того, в опытах с внутрибрюшинным введением трипанового синего показано, что изменения печени вызывают повышение проницаемости плацентарного барьера, а также снижение пролиферативной активности клеток трофобласта.

Ключевые слова: плацента, крыса, хроническое поражение печени, плацентарная недостаточность

Актуальность настоящего исследования определяется важной ролью материнского здоровья в решении проблемы воспроизводства полноценного потомства. В структуре экстрагенитальных заболеваний особое место, в силу своей распространенности, занимают болезни гепатобилиарной системы. Экспериментально ранее было показано [2, 3], что патология гепатобилиарной системы матери обуславливает рождение физиологически незрелого потомства, что нашло свое проявление в нарушении морфофункционального становления систем жизнеобеспечения. Вместе с тем, является постулатом положение о том, что состояние плаценты во многом определяет оптимальное развитие плода. Однако особенности структурно-функциональных изменений в плаценте при хроническом поражении печени матери до сих пор до конца не изучены.

Цель настоящего исследования — анализ морфологических особенностей аллantoидной плаценты крысы при экспериментальной хронической патологии печени.

Материал и методы. Исследование выполнено на белых лабораторных крысах линии Вистар с соблюдением

«Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных». У 3-месячных половозрелых животных моделировали хроническое поражение печени: у одних (лекарственная группа — ЛГ) его создавали путем 2-кратного (в течение 2 сут) интрагастрального введения парацетамола в дозе 2,5 г/кг массы тела [4], у других (токсическая группа — ТГ) — вводили D-галактозамин 1-кратно внутрибрюшинно в дозе 250 мг/кг массы тела [5].

О развитии патологического процесса в печени экспериментальных животных судили на основании морфологических изменений (очаговые бионекротические изменения гепатоцитов, их дискомплексация, периваскулярная лимфогистиоцитарная инфильтрация, гипертрофия и гиперплазия звездчатых макрофагов — клеток Купфера), биохимических критериев (повышение концентрации билирубина, аланин- и аспаргатаминотрансфераз) и высокого титра печеночных аутоантител (1:320 и 1:640). Через 7 сут после введения парацетамола и D-галактозамина самок подсаживали к интактным самцам. Контрольную группу (КГ) составили интактные животные. В каждой экспериментальной группе было по 15 животных. Объектом исследования служила гемохориальная плацента крыс интактной и подопытных групп на 21-е сутки беременности, начало которой устанавливали по наличию сперматозоидов во влагалищном мазке. От одного животного в исследование включали одну плаценту. Материал фиксировали в 10% формалине. Серийные гистологические срезы (10 предметных стекол по 8 срезов на каждом от одной плаценты

Сведения об авторах:

Брюхин Геннадий Васильевич, кафедра гистологии, эмбриологии и цитологии, Южно-Уральский государственный медицинский университет, 454092, г. Челябинск, ул. Воровского, 64

Абдильдин Руслан Касымбекович (e-mail: ruslan.abdildin@mail.ru), кафедра микробиологии, иммунологии и общей биологии, Челябинский государственный университет, 454001, г. Челябинск, ул. Бр. Кашириных, 129

одной крысы) толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином — эозином, железным гематоксилином по Вейгерту.

Для оценки морфофункционального состояния плаценты использовали общепринятые критерии: абсолютные площади лабиринтной и базальной зон, материнских синусоидов базального отдела, материнских и фетальных капилляров лабиринта. Определение абсолютной площади осуществляли с помощью инструмента «Объект сплайном» аппаратно-программного комплекса ВидеоТест «Морфология» 5.0, с помощью которого выделяли границы исследуемых объектов.

Для оценки пролиферативной активности плацентарных клеток различных компартментов применяли иммуноморфологический метод с использованием антител к антигену Ki-67 (Novocastra, США). Подсчитывали количество иммунопозитивных клеток на условной единице площади (50×10^4 мкм²).

В специальной серии проведены исследования влияния хронической патологии печени матери на проницаемость плацентарного барьера. Ее оценивали с помощью 3% раствора трипанового синего на 0,9% водном растворе хлорида натрия, который вводили внутривенно на 20-е сутки беременности подопытным и контрольным (интактным) животным в количестве 3 мл. Подсчитывали количество гранул красителя в цитоплазме синцитиотрофобласта и цитотрофобласта на условной единице площади (2088 мкм²).

Полученные цифровые данные обрабатывали с использованием программы Statistica 6.0 (Statsoft). Учитывая небольшую выборку животных, значимость полученных результатов определяли при помощи непараметрического метода — критерия Манна—Уитни.

Результаты исследования. Основными структурными компонентами гемохориальной плаценты у грызунов являются базальная зона и лабиринтный отдел. Полученные данные свидетельствуют о том, что в ТГ уменьшена абсолютная площадь лабиринтного отдела до $173\,641 \pm 956$ мкм² (в КГ — $197\,947 \pm 1743$ мкм²) ($P < 0,05$). Более существенно изменялась площадь лабиринтного отдела плаценты в ЛГ снижением этого показателя до $168\,179 \pm 292$ мкм² ($P < 0,05$). При этом увеличивалась абсолютная площадь базального отдела плаценты в обеих подопытных группах. Так, в КГ она составляла $68\,960 \pm 501$ мкм², в то время как в ЛГ — $104\,529 \pm 2006$ мкм² ($P < 0,05$), а в ТГ — $113\,231 \pm 394$ мкм² ($P < 0,05$).

У крыс ЛГ в базальной зоне плаценты обнаружено снижение абсолютной площади материнских синусоидов с 7677 ± 102 до 5236 ± 54 мкм² ($P < 0,05$), в то же время в ТГ она равнялась 3757 ± 48 мкм² ($P < 0,05$), что может свидетельствовать о недостаточном кровенаполнении плаценты.

Кроме того, снизилась площадь материнских лакун и фетальных капилляров лабиринта, между которыми осуществляется обмен веществ. Так, площадь материнских лакун лабиринта в КГ составила $76\,650 \pm 539$ мкм², в то время как в плаценте животных ЛГ этот показатель был равен $65\,968 \pm 605$ мкм² ($P < 0,05$), а в ТГ снизился до $65\,700 \pm 389$ мкм² ($P < 0,05$).

Площадь фетальных капилляров в ЛГ ($47\,315 \pm 607$ мкм²) и ТГ ($50\,357 \pm 1273$ мкм²) значимо ($P < 0,05$) снизилась по сравнению с таковой в КГ ($57\,614 \pm 688$ мкм²).

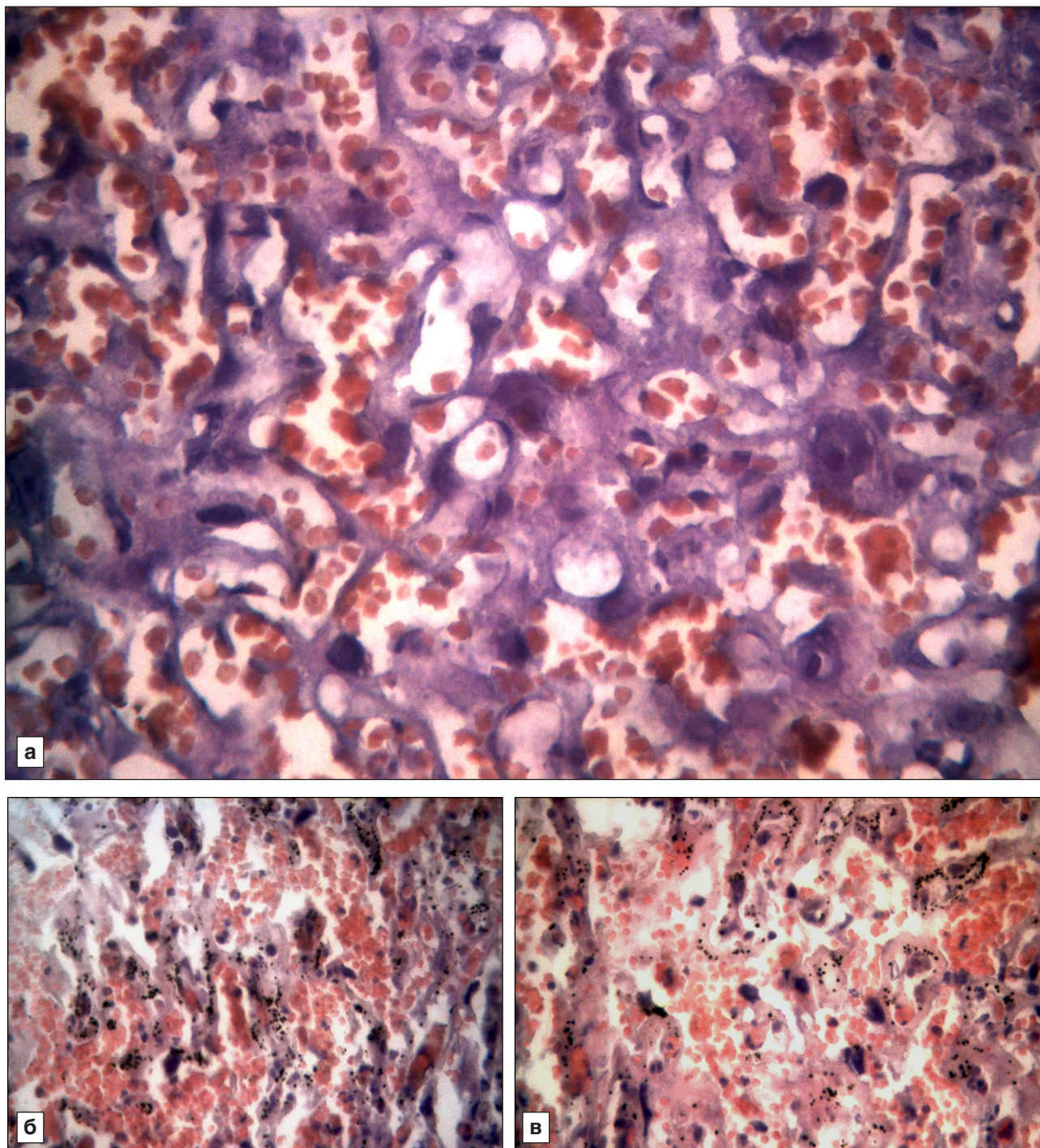
При исследовании проницаемости мембран плацентарного барьера получены данные, свидетельствующие о ее повышении. Так, в ЛГ количество гранул трипанового синего на условной единице площади в синцитиотрофобласте составило 88 ± 8 , в цитотрофобласте — $56,2 \pm 2,8$. У животных ТГ в синцитиотрофобласте обнаружено 107 ± 5 , а в цитотрофобласте — 99 ± 6 гранул. При этом в плаценте у животных ЛГ гранулы красителя обнаружены не были ни в синцитиотрофобласте, ни в цитотрофобласте (рисунк).

Анализ пролиферативной активности плацентарных клеток различных компартментов выявил изменения количества Ki-67-позитивных клеток на единице площади в обеих подопытных группах по сравнению с КГ. Так, количество иммунопозитивных вторичных гигантских клеток трофобласта базальной зоны в плаценте снизилось с $0,10 \pm 0,010$ до $0,030 \pm 0,010$ у крыс ЛГ ($P < 0,05$) и до $0,060 \pm 0,010$ у крыс ТГ ($P < 0,05$).

Кроме того, уменьшилось количество Ki-67-иммунопозитивных клеток спонгиозотрофобласта: так, в ЛГ до $1,70 \pm 0,010$ и $1,80 \pm 0,020$ в ТГ (в группе контроля — $2,10 \pm 0,06$). Также обнаружено значимое снижение количества иммунопозитивных клеток синцитиотрофобласта лабиринта — с $12,2 \pm 0,4$ в КГ до $9,30 \pm 0,10$ в ЛГ и $11,70 \pm 0,12$ в ТГ.

Значимое изменение количества Ki-67-позитивных клеток обнаружено в цитотрофобласте плаценты у животных ЛГ. Так, если в контроле данный показатель составил $13,30 \pm 0,12$ клеток, то в ЛГ — $9,40 \pm 0,10$. В то же время, снижение количества иммунопозитивных клеток в ТГ было незначимым — $10,90 \pm 0,04$ клеток.

Обсуждение полученных данных. Во время беременности формируются механизмы адаптации и компенсации, направленные на вынашивание и рождение здорового ребенка, образуется система мать—плод, интегральным компонентом которой является плацента [6]. В то же время, для нормального развития беременности необходимо полноценное структурно-функциональное взаимодействие плода с плацентой, которое осуществляется, прежде всего, за счет единой гемоциркуляторной системы — фетоплацентарного круга кровообращения [8]. В результате многочисленных исследований установлена абсолютная зависимость плаценты, с одной стороны, от возрастающих потребностей развивающегося плода, а с другой — от исходных возможностей



Плацента интактной крысы — контрольной группы (а) , при хроническом поражении печени путем введения парацетамола — лекарственной группы (б) и при введении D-галактозамина — токсической группы (в).

а — отсутствие гранул трипанового синего; б, в — в трофобласте лабиринтной зоны многочисленные гранулы трипанового синего. Окраска гематоксилином — эозином. Об. 40, ок. 10

и функциональных резервов материнского организма [8]. В связи с этим не вызывает сомнений, что патогенетические основы хронической фетоплацентарной недостаточности связаны, прежде всего, со структурными изменениями в плаценте [9]. Логично предположить, что выявленные нами морфологические изменения в плаценте самок

крыс с экспериментальным поражением печени (уменьшение удельного объема лабиринта, гигантских клеток, материнских синусоидов базальной зоны, материнских лакун, фетальных капилляров и трофобласта лабиринта) могут свидетельствовать о развитии плацентарной недостаточности. В пользу этого свидетельствует также установ-

ленное нами нарушение у подопытных животных фетоплацентарного кровообращения (уменьшение суммарной площади сосудистого русла).

Можно заключить, что компенсаторно-приспособительные реакции плода реализуются в том числе на уровне плаценты [10]. В связи с этим логично предположить, что выявленные нами морфологические изменения в плаценте у подопытных животных обуславливают развитие хронической гипоксии плода, которая приводит к развитию полиорганной дисфункции, в том числе систем жизнеобеспечения [1, 7], определяющих диапазон компенсаторно-приспособительных реакций и, как следствие, формированию физиологической незрелости потомства.

ЛИТЕРАТУРА

1. Балашова М.О. Структурно-функциональные перестройки в плаценте, тимусе и селезенке при хронической гипоксии и ее коррекции низкоинтенсивным инфракрасным излучением: Дис. ... канд. биол. наук. Иваново, 2001.
2. Брюхин Г.В., Сизоненко М.Л. Роль экспериментального поражения печени матери в развитии физиологической незрелости потомства // Бюл. exper. биол. 2012. Т. 154. № 11. С. 544–547.
3. Брюхин Г.В., Шопова А.В. Активность внеклеточных ловушек макрофагов различных компартментов у потомства самок крыс с лекарственным поражением печени // Иммунология. 2013. № 6. С. 304–308.
4. Венгеровский А.И., Маркова И.В., Сартиков А.С. Методические указания по изучению гепатозащитной активности фармакологических веществ: руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: Медицина, 2005.
5. Венгеровский А.И., Саратиков А.С. Метаболизм липидов и функциональное состояние печени при интоксикации D-галактозамином у крыс // Патол. физиол. exper. тер. 1998. № 3. С. 52–54.
6. Глуховец Б.И., Глуховец Н.Г. Патология последа. СПб.: ГРААЛЬ, 2002.
7. Качалина Т.С. Хроническая плацентарная недостаточность: уч.-метод. пособие. Н. Новгород: Изд-во Нижегородск. гос. мед. акад., 2008.
8. Радзинский В.Е., Милованов А.П., Ордянец И.М. и др. Экстраэмбриональные и околоплодные структуры при нормальной и осложненной беременности. М.: Медицинское информационное агентство, 2004.
9. Ashfaq M., Channa M.A., Malik M.A., Khan D. Morphological changes in human placenta of wet snuff users // J. Ayub med. coll. Abbottabad. 2008. Vol. 20. P. 110–113.
10. Cross J.C. Placental function in development and disease // Reprod. fertil. dev. 2006. Vol. 18. P. 71–76.

Поступила в редакцию 06.08.2015

Получена после доработки 07.04.2016

G. V. Briukhin¹, R. K. Abdil'din²

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE ALLANTOIC PLACENTA IN RATS WITH EXPERIMENTAL LIVER DAMAGE

The aim of the study was an analysis of the peculiarities of morphological changes of the placenta in rats with experimental chronic hepatic lesion. Liver injury was modeled in 3-month-old sexually mature female rats by 2-fold intragastric administration of paracetamol at a dose of 2.5 g/kg body weight (drug group, n=15) and a single intraperitoneal injection of D-galactosamine at a dose of 250 mg/kg of body weight (toxic group, n=15). Intact rats served as a control. The placenta examined at Day 21 of pregnancy using histological and morphometric methods. Proliferative activity of placental cells was evaluated with the immunocytochemical method using antibodies against Ki-67 antigen. The membrane permeability in different trophoblast compartments was examined. It was found that experimental chronic liver pathology caused morphological changes in the placenta, which were manifested by a decrease in the area of its labyrinthine portion, maternal sinusoids in the basal area, fetal capillaries and maternal lacunae of the labyrinth. In addition, in the experiments with an intraperitoneal injection of trypan blue it was shown that changes in the liver caused increased permeability of the placental barrier, and reduced the proliferative activity of trophoblast cells.

Key words: *placenta, rat, chronic liver disease, placental insufficiency*

¹ Department of Histology, Embryology and Cytology, South Ural State Medical University, Chelyabinsk; ² Department of Microbiology, Immunology and General Biology, Chelyabinsk State University