

Л.И. Хожай, Т.Т. Шишко, В.Б. Косткин и В.А. Отеллин

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ФЕТАЛЬНОЙ ЧАСТИ АЛЛАНТОИСНОЙ ПЛАЦЕНТЫ КРЫС ПОСЛЕ ДЕЙСТВИЯ ОСТРОЙ ГИПОКСИИ

Отдел морфологии (руков. — чл.-кор. РАМН проф. В.А. Отеллин) Института экспериментальной медицины РАМН; лаборатория онтогенеза нервной системы (зав. — чл.-кор. РАМН проф. В.А. Отеллин) Института физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург

Цель работы — анализ реакции элементов цито- и синцитиотрофобласта фетальной части аллантаоисной плаценты на общую острую гипоксию и определение их морфологических характеристик, лежащих в основе структурных изменений в плаценте и в нарушении плацентарной гемодинамики. Самок крыс Вистар на 16-е сутки беременности подвергали действию гипоксии (содержание кислорода в газовой смеси 8%) в течение 1 ч. Исследование плацент проводили через 1 и 3 сут. Показано, что кратковременная острая гипоксия приводит к нарушению формирования и созревания фетальной части плаценты. В лабиринтной зоне усиливается апоптоз и появляется значительное число гиперхромных ядер, что приводит к утрате части клеток цитотрофобласта и вызывает задержку его развития и трансформации в синцитиотрофобласт. Через 1 сут после действия гипоксии имеет место активация адаптивных процессов, о чем свидетельствует резкое увеличение митотической активности в цитотрофобласте лабиринтной зоны фетальной части плаценты. Однако задержка развития лабиринтной зоны остается до конца беременности. Число и объем фетальных сосудов по сравнению с контролем уменьшаются. Резкое снижение числа и размеров синусоидов, содержащих материнскую кровь, а также значительное сокращение объема крови в синусоидах, свидетельствуют о спазме маточных и плацентарных сосудов, что приводит к нарушению маточно-плацентарного кровообращения и развитию плацентарной недостаточности.

Ключевые слова: плацента, фетальная часть, трофобласт, гипоксия, плацентарная недостаточность.

Функции плаценты включают адекватную срокам беременности инвазию трофобласта, возрастание маточно-плацентарного кровотока, транспорт питательных веществ, таких как глюкоза, аминокислоты, липиды, выработку и перенос гормонов, ростовых и регулирующих факторов. Функциональная недостаточность плаценты является одной из главных причин высокой перинатальной смертности, задержки развития и заболеваемости новорожденных. Клинические наблюдения показывают, что беременность, осложненная различными акушерскими (невынашивание, многоплодие, гестоз) и экстрагенитальными (гипертоническая болезнь, заболевания почек, сахарный диабет и др.) заболеваниями, а также при действии различных неблагоприятных факторов окружающей среды, может сопровождаться развитием плацентарной недостаточности. Структурные основы этого синдрома остаются мало изученными, в связи с невозможностью их исследования в динамике развития плацентарной недостаточности в акушерской клинике. В настоящей работе мы использовали модель гипоксии, действие которой в пренатальный период приводит к нарушениям формирования неокортекса и других формаций головного мозга, к развитию ряда нервно-психических заболеваний и расстройств, таких как эпилепсия, церебральный паралич, нарушениям физиологических функций и поведения [2–4, 10]. Цель настоящего исследования заключалась в

анализе реакции клеточных элементов фетальной части плаценты (лабиринтного и внелабиринтного отделов) на общую острую гипоксию и в определении их морфологических характеристик, лежащих в основе структурных фетоплацентарных изменений.

Материал и методы. Работа выполнена на беременных самках крыс линии Вистар с учетом «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных». Первым днем беременности считали день выявления сперматозоидов во влагалищном мазке. Всего использовано 7 беременных самок (5 подопытных и 2 контрольных — интактных). У крыс фетальная часть аллантаоисной плаценты формируется к 16-м суткам беременности и далее наступает период ее активного роста. Самок крыс на 16-е сутки беременности подвергали гипоксическому воздействию в камере, которую в течение 1 ч постоянно продували азотнокислородной смесью, содержащей 8% кислорода. В камере поддерживали температуру 21–23 °С, контролировали содержание кислорода и углекислого газа на газоанализаторе CF-101 (SPHAA, Франция), на дно камеры был помещен химический поглотитель CO₂. Через 1 и 3 сут после воздействия гипоксии (т.е. на 17-е и 19-е сутки беременности) плаценту фиксировали общепринятыми методами. В каждый из сроков было использовано по 7–8 плацент от разных самок. Парафиновые фронтальные срезы окрашивали гематоксилином Майера — эозином, на них же иммуноцитохимически выявляли ядерный белок пролиферирующих клеток (PCNA, ядерный антиген пролиферирующих клеток) с использованием антител фирмы DAKO (Дания). На центральном поперечном срезе фетальной части плаценты у каждого животного измеряли ее толщину. На площади среза, равной 1300 мкм², подсчитыва-

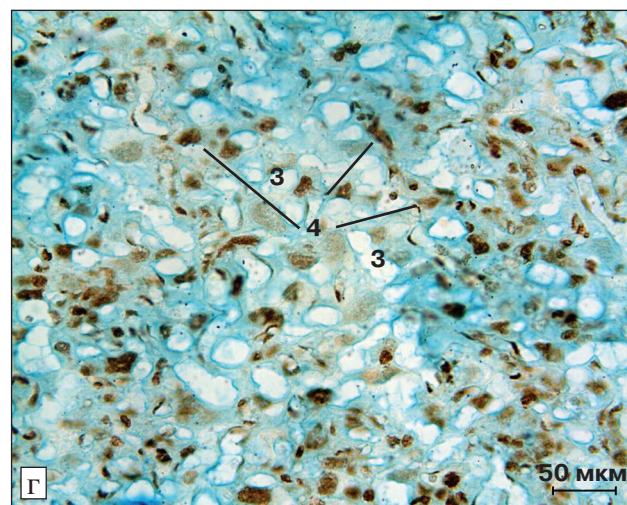
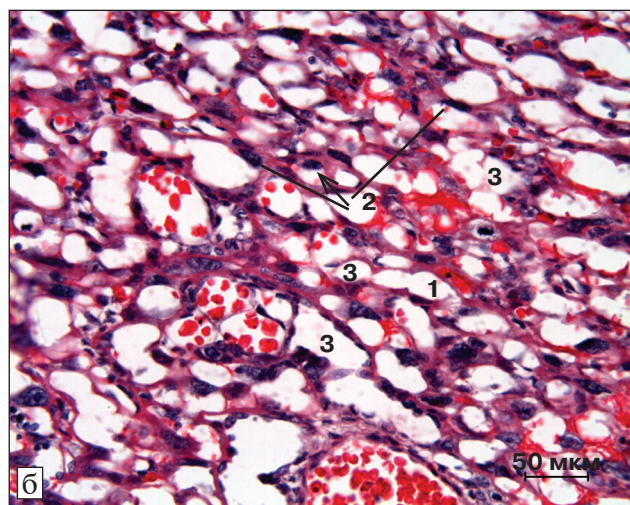
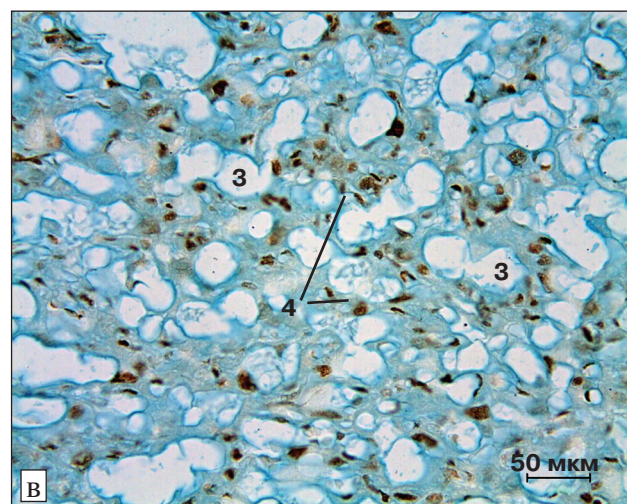
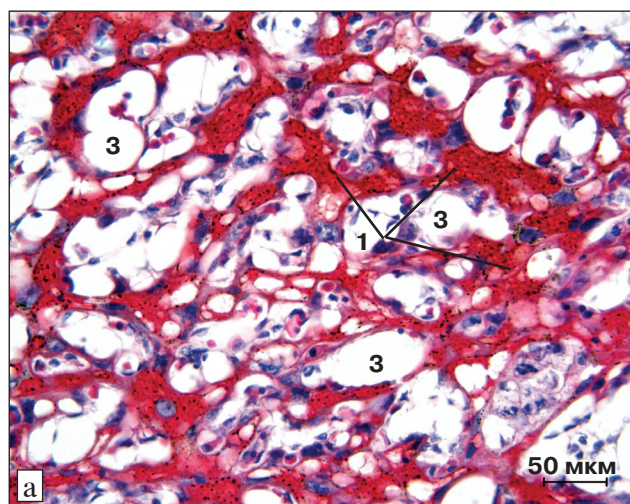
ли количество PCNA-положительных клеток трофобласта. Статистическую обработку полученных данных проводили при помощи компьютерной программы FOTOM.

Результаты исследования. У контрольных крыс на 17-е сутки беременности лабиринтная зона занимает основной объем в фетальной части плаценты, причем клеточные элементы трофобласта в виде тяжей и островков встречаются в ней исключительно редко, большая их часть уже трансформирована в синцитиотрофобласт.

У крыс через 1 сут после действия гипоксии (17-е сутки беременности) в лабиринтной зоне происходит задержка развития трофобласта по сравнению с контролем. Сохраняются широкие тяжи и островки клеток трофобласта разного размера. Основную часть составляют клетки малого и среднего размера с мелкими ядрами и неболь-

шим объемом цитоплазмы. Имеется значительное количество клеток трофобласта с гиперхромными ядрами (рисунок, б, 2). Часто встречаются группы апоптотных телец. Число и периметр фетальных сосудов меньше, чем в контроле (см. рисунок, 1 а, б, 3). Синусоиды, ограниченные синцитиотрофобластом, содержат небольшой объем материнской крови и меньше по размеру, чем в норме (см. рисунок, а, б, 1). Изменения наблюдаются и во внелабиринтной зоне фетальной части плаценты. В отличие от контроля, наряду с крупными клетками цитотрофобласта, присутствуют множество островков, состоящих из мелких клеток. Результаты измерений показали, что общая толщина фетальной части плаценты составила 50% от аналогичного показателя у контрольной самки.

Через 3 сут после действия гипоксии (19-е сутки беременности) в большей части исследованных



Центральная часть лабиринтной зоны фетальной части плаценты крысы на 17-е сутки беременности.

а, в — контроль, б, г — через 1 сут после действия гипоксии на 16-е сутки беременности. 1 — синусоиды, содержащие кровь матери; 2 — гиперхромные ядра клеток трофобласта; 3 — фетальные сосуды; 4 — PCNA-позитивные ядра трофобласта и эндотелиальных клеток. а, б — окраска гематоксилином Майера—эозином; в, г — иммуноцитохимическая реакция на ядерный белок пролиферирующих клеток (PCNA), метиленовый зеленый.

случаев наблюдалась задержка развития фетальной части плаценты и трансформации цитотрофобласта в синцитиотрофобласт. Лабиринтная зона в части, обращенной к плоду, имеет сетевидное строение, представленное тяжами и островками мелких клеток цитотрофобласта. В контроле в этот срок беременности синцитиотрофобласт по всей толщине фетальной части плаценты формирует трубки, расходящиеся радиально к поверхности плаценты. Синусоиды, содержащие кровь матери, имеют меньший объем, чем в контроле. Фетальные сосуды расширены, число их снижено. Во внелабиринтной зоне фетальной части плаценты значительное число мелких клеток формируют тяжи и островки, в которых встречаются клетки с гиперхромными ядрами и погибающие клетки трофобласта. Иммуноцитохимическое исследование показало, что уже через 1 сут после действия гипоксии в фетальной части плаценты число PCNA-позитивных клеток по сравнению с контролем резко возрастает (см. рисунок, в, г, 4). Как в лабиринтной зоне, так и во внелабиринтной их число превышает более чем в 2 раза таковое в контроле ($164,0 \pm 1,5$ и $78,0 \pm 1,2$; $9,3 \pm 1,8$ и $5,0 \pm 1,1$ соответственно). Через 3 сут после действия гипоксии (19-е сутки беременности) в лабиринтной зоне фетальной части плаценты обнаруживается большее число иммунопозитивных клеток трофобласта ($12,3 \pm 1,2$ клеток на единице площади), чем в контроле, где они крайне редки и единичны.

Обсуждение полученных данных. Результаты исследования показали, что воздействие кратковременной острой гипоксии во время беременности приводит к нарушению роста и созревания фетальной части плаценты. При этом возникают ряд структурных изменений. Значительная часть ядер клеток цитотрофобласта и ядер синцитиотрофобласта гиперхромны. В подавляющем большинстве они деформированы, что свидетельствует о происходящих необратимых процессах, приводящих к гибели клеток цитотрофобласта и нарушению целостности синцитиотрофобласта. Кроме того, в лабиринтной зоне фетальной части плаценты усиливается апоптоз. Все это приводит к утрате части клеток цитотрофобласта и, как следствие, к задержке его развития и трансформации в синцитиотрофобласт. Несмотря на то, что уже через 1 сут после воздействия гипоксии имеют место активация адаптивных процессов и резкое увеличение митотической активности в цитотрофобласте, структурные нарушения в лабиринтной зоне фетальной части плаценты остаются до конца беременности.

Число и периметр фетальных сосудов по сравнению с таковыми в контроле уменьшаются. Резкое снижение числа и размеров синусоидов, содержащих материнскую кровь, а также значительное сокращение объема крови в синусоидах, свидетельствуют о спазме маточных и плацентарных сосудов, что приводит к нарушению маточно-плацентарного кровообращения и развитию плацентарной недостаточности. Ранее было отмечено, что при патологических состояниях материнского организма у грызунов плацентарные сосуды обладают способностью ритмически сокращаться, вызывая значительные изменения просвета маточных и плацентарных сосудов, а в ряде случаев и их спазм. Кроме того, имеет место недоразвитие сети фетальных сосудов [1]. Установлено, что клетки цитотрофобласта при гипоксии высвобождают факторы, вызывающие вазомоторные реакции в фетальной части плаценты [5, 9]. Показано, что при воздействии гипоксии в пренатальный период происходит резкое снижение как общей массы плодов, так и отдельных органов: мозга, печени, кишечника и самой фетальной части плаценты [6, 7]. Плацентарная гипоксия может приводить к гибели плода, при этом обнаружено нарушение ангиогенеза фетальных сосудов и трансформация трофобласта [8]. Таким образом, результаты настоящего исследования дополняют представления о структурных основах развития синдрома плацентарной недостаточности и патогенетической роли гипоксии в период роста и развития фетальной части плаценты, неизбежно приводящих к нарушению маточно-плацентарной гемодинамики.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гармашева Н.Л. Вопросы патофизиологии внутриутробного развития. В кн.: Патофизиология внутриутробного развития. Л., Медгиз, 1952, с. 5–30.
2. Батаева Л.А., Косткин В.Б., Макухина Г.В. и др. Поведение в «открытом поле» у самок и самцов крыс, подвергавшихся действию гипоксии в различные сроки пренатального периода развития. Докл. РАН, 2001, т. 380, № 1, с. 125–127.
3. Хожай Л.И., Отеллин В.А. и Косткин В.Б. Формирование неокортекса у крыс после пренатальной гипоксии. Морфология, 2002, т. 122, вып. 5, с. 34–38.
4. Cannon T., van Erg T., Rosso I. et al. Fetal hypoxia and structural brain abnormalities in schizophrenic patients, their siblings, and controls. Arch. Gen. Psychiatry, 2002, v. 59, № 1, p. 35–41.
5. Gratton R.J., Gandle R.E., Genbacev O. et al. Conditioned medium from hypoxic cytotrophoblast alters arterial function. Am. J. Obstet. Gynecol., 2001, v. 184, № 5, p. 984–990.
6. Grauw T.J., Myers R.E. and Scott W.J. Fetal growth retardation in rats from different levels of hypoxia. Biol. Neonate., 1986, v. 49, № 2, p. 85–89.
7. Hirobumi A., Nakai A., Power G.G. and Tsutomu A. Short-term effects of different thermal conditions during uteroplacental

- ischaemia on fetal growth of Sprague-Dawley rats. *Reprod. Fertil. Dev.*, 2002, v. 14, № 5–6, p. 355–361.
8. Ishimura R., Kawakami T., Ohsako S. et al. Suppressive effect of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on vascular remodeling that takes place in the normal labyrinth zone of rat placenta during late gestation. *Toxicol. Sci.*, 2006, v. 91, № 1, p. 265–274.
9. Krampl E., Chalubinski K., Schatten C. and Husslein P. Does acute hypoxia cause fetal arterial blood flow redistribution? *Ultrasound Obstet. Gynecol.*, 2001, v. 18, № 2, p. 175–177.
10. Nyakas C., Buwalda B. and Luiten P. Hypoxia and brain development. *Prog. Neurobiol.*, 1996, v. 49, № 1, p. 1–51.

Поступила в редакцию 22.01.07
Получена после доработки 12.03.07

MORPHOLOGICAL CHANGES IN FETAL PART OF ALLANTOIC PLACENTA IN RATS EXPOSED TO ACUTE HYPOXIA

L. I. Khozhai, T. T. Shishko, V. B. Kostkin and V. A. Otellin

The aim of this study was to analyze the response of cyto- and syncytiotrophoblast elements of fetal part of allantoic placenta to general acute hypoxia and to determine their morphologic characteristics, which provide the basis for structural changes in placenta and for the disturbances in placental blood flow. Female Wistar rats on day 16 of gestation were exposed to hypoxia (8 %

oxygen concentration in the gas mixture) for 1 hr. Placenta was studied 1 and 3 days later. Short-term acute hypoxia during pregnancy was shown to induce an impairment of formation and maturation of the fetal part of placenta. In the labyrinth zone, apoptosis was enhanced and a significant number of hyperchromatic nuclei appeared in cyto- and syncytiotrophoblast, which lead to the loss of some cells of cytotrophoblast and resulted in the retardation of its development and transformation into syncytiotrophoblast. One day following hypoxia, a stimulation of adaptive processes was evident as demonstrated by a dramatic rise of mitotic activity in the cytotrophoblast of the labyrinth zone of placental fetal part. However, a delay of the labyrinth zone development persisted till the end of pregnancy. Number and volume of fetal blood vessels were decreased as compared to those in control. A sharp decline of number and size of sinusoids containing maternal blood as well as a significant decrease of blood volume in the sinusoids, suggest a spasm of the uterine and placental vessels causing an impairment of utero-placental blood circulation and development of placental insufficiency.

Key words: *placenta, fetal part, trophoblast, hypoxia, placental insufficiency.*

Department of Morphology, RAMS Scientific Research Institute of Experimental Medicine; Laboratory of Nervous System Ontogenesis, RAS I.P. Pavlov Institute of Physiology, St. Petersburg.

© Р.В. Деев, 2007
УДК 611.018.4:616-003.93:636.92

Р.В. Деев

АНАЛИЗ РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТЕЙ КРЫШИ ЧЕРЕПА

Кафедра гистологии и эмбриологии (зав. — проф. Р.К. Данилов) Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

На модели дефекта теменных костей кролика ($n=18$) при помощи световой и сканирующей электронной микроскопии и морфометрии изучали закономерности репаративного остеогистогенеза. Показано, что посттравматическая регенерация костей крыши черепа включает основные стадии, характерные и для длинных трубчатых костей: первичной реакции на повреждение, репаративного остеогистогенеза и адаптивной перестройки. На каждой из стадий в регенерате функционируют временные клеточные ассоциации — регенераторные гистионы, которые являются клеточными эффекторами процесса репарации, происходящей на основе закономерностей физиологического остеогенеза, включающего фазы резорбции, реверсии, формирования и покоя. Показано, что к 120-м суткам зона дефекта заполнена преимущественно плотной волокнистой соединительной тканью, что связано с функциональной адаптацией без воздействия сил физической нагрузки.

Ключевые слова: *костная ткань, регенерация, базисные многоклеточные единицы, гистион.*

Способность к репаративному гистогенезу костей крыши черепа существенно ниже, чем трубчатых костей [14, 15]. Представляется целесообразным рассмотреть данное явление с позиции функционирования ассоциации клеток различных дифферендов — гистионов [4, 5]. Известно, что процесс ремоделирования, или физиологической регенерации, костной ткани является результатом деятельности базисных многоклеточных единиц

(БМЕ) [16, 19], анализ которой эффективен при диагностике и мониторинге лечения остеопороза [6]. БМЕ — это функциональный гистион костной ткани, обеспечивающий ее ремоделирование. При повреждении кости процессы восстановления осуществляют те же основные клеточные элементы, поскольку репаративная регенерация реализуется на основе механизмов физиологической [12], однако гистион в данном случае будет не