

ХАРАКТЕРИСТИКА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПЛАЦЕНТЫ КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ХРОНИЧЕСКИМ ПОРАЖЕНИЕМ ПЕЧЕНИ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА

Р. К. Абдильдин, Г. В. Брюхин

ГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет»
Минздрава России, г. Челябинск, Россия

Актуальность исследования определяется важной ролью материнского здоровья в решении проблемы воспроизводства полноценного потомства. Многочисленными исследованиями подтверждена роль патологии печени в формировании физиологической незрелости потомства. В связи с тем, что оптимальное развитие плода во многом определяется состоянием плаценты, целью исследования явился анализ ее функционального состояния у крыс с экспериментальным хроническим поражением печени. У части животных поражение печени воспроизводили путем подкожного введения 0.1 мл 40% масляного раствора четыреххлористого углерода 2 раза в неделю в течение 2 месяцев. Другой группе животных в течение двух дней интрагастрально вводили парацетамол в дозе 2.5 г/кг массы тела. С помощью иммуногистохимического и биологического методов изучена пролиферативная, антиапоптотическая и проапоптотическая активность и проницаемость мембран трофобласта различных компартментов. Анализ особенностей функционального состояния плаценты крыс с экспериментальным хроническим токсическим и лекарственным поражением печени позволил выявить снижение пролиферативной и антиапоптотической активности и усиление проапоптотической активности клеток плаценты. Кроме того, установлено, что хроническая патология печени в условиях эксперимента обуславливает повышение проницаемости мембран плацентарного барьера, что может свидетельствовать, на наш взгляд, о развитии плацентарной недостаточности.

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

© R. K. Abdil'din, G. V. Bryukhin, 2016

South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia

Characteristics of Functional State of Rats' Placenta with Experimental Chronic liver Disease of Various Origins

The relevance of research is determined by the important role of maternal health in solving the problem of reproduction of full posterity. Numerous studies have confirmed the role of liver disease in the formation of the physiological immaturity of the offspring. The aim of the study was to analyze the functional state in rats with experimental chronic liver disease due to the fact that the optimal development of the fetus is largely determined by the condition of the placenta. In some animals liver damage was induced by subcutaneous injection of 0.1 ml of a 40% oil solution of carbon tetrachloride two times a week for 2 months. Another group of animals was administered intragastric for two days at a dose of paracetamol of 2.5 g/kg of body weight. Proliferative, anti-apoptotic and proapoptotic activity and membrane permeability of trophoblast of different compartments studied by using immunohistochemistry and biological methods. Analysis of the characteristics of the functional state of the placenta of rats with experimental chronic toxic and drug liver disease allowed to establish reducing of proliferative and anti-apoptotic activity and increasing of pro-apoptotic activity of the placental cells of different compartments. In addition, it was found that chronic liver pathology in experiment leads to increasing of permeability of the membranes of the placental barrier that may indicate in our opinion the development of placental insufficiency.

Keywords: placenta, rat, chronic liver disease, placental insufficiency.

Введение

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. Ранее нами [3, 4] было показано, что экспериментальная патология гепатобилиарной системы матери обуславливает рождение физиологически незрелого потомства, что находит свое проявление в нарушении морфофункцио-

нального становления систем жизнеобеспечения. Вместе с тем, является постулатом положение о том, что состояние плаценты во многом определяет оптимальное развитие плода [6, 7]. Однако особенности функциональных изменений в плаценте при хроническом поражении печени матери до сих пор до конца не изучены.

Цель настоящего исследования – анализ пролиферативной, антиапоптотической и проапоптотической активности, а также проницаемости мембран плацентарного барьера у крыс с экспериментальным хроническим поражением печени.

Материал и методы исследования

Исследование проведено на белых лабораторных беспородных крысах. Для достижения поставленной цели у половозрелых животных моделировалось хроническое поражение печени различного генеза. У животных «токсической» группы хроническое поражение печени воспроизводили путем подкожного введения 0.1 мл 40% масляного раствора гепатотропного яда – четыреххлористого углерода 2 раза в неделю в течение 2 месяцев [8]. Другой группе животных (лекарственная группа) в течение двух дней интрагастралью вводили парацетамол в дозе 2.5 г/кг массы тела [5]. О развитии патологического процесса в печени экспериментальных животных судили на основании морфологических изменений (очаговых бионекротических изменений гепатоцитов, дисконфлексии гепатоцитов, периваскулярной лимфогистиоцитарной инфильтрации, гипертрофии и гиперплазии купферовских клеток), биохимических критериев (повышения концентрации билирубина, аланин- и аспаратаминотрансфераз) и высокого титра печеночных аутоантител (1:320 и 1:640). Через 5 дней после последнего введения самок подсаживали к интактным самцам. Контрольную группу составляли интактные животные. В каждой экспериментальной группе было по 15 животных. Объектом исследования служили гемохориальные плаценты крыс интактной и опытных групп на 21-й день беременности. Начало беременности устанавливали по наличию сперматозоидов во влагалищном мазке. Животных выводили из эксперимента путем декапитации с использованием эфирного наркоза. Плаценты фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина.

Для оценки пролиферативной активности плацентарных клеток различных компарментов применяли иммуноморфологический метод с использованием антител к антигену Ki-67. Подсчитывали количество иммунопозитивных клеток на единицу условной площади ($50 \times 104 \text{ мкм}^2$). Иммуногистохимическую активность Vcl-2 и p53 оценивали с помощью методики «Оптическая плотность с вводом эталонов» программы ВидеоТест-Морфология 5.0. Оптическую плотность выражали в условных единицах (у.е.).

В специальной серии проведены исследования влияния хронической патологии печени матери на проницаемость гематоплацентарного барьера. Проницаемость плацентарного барьера оценивалась с помощью 3% раствора трипанового синего на физиологическом растворе, который вводили внутривентрально на 20-й день беременности интактным и подопытным животным в количестве 3 мл [1]. Анализировали наличие и содержание гранул красителя трипанового синего, про-

никших в цитоплазму синцитио- и цитотрофобласта, на единицу условной площади (2088 мкм^2).

Полученные цифровые данные обрабатывали на компьютере с использованием программы Statistica v.6.0 (Statsoft, Inc.). Учитывая небольшую выборку животных, достоверность полученных результатов определяли при помощи непараметрического метода – критерия Манна–Уитни.

При проведении эксперимента были соблюдены «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных».

Результаты и их обсуждение

Анализ пролиферативной активности плацентарных клеток различных компарментов выявил заметные изменения в количестве Ki-67-положительных клеток на единицу площади в опытных группах. Так, количество иммунопозитивных клеток цитотрофобласта лабиринта уменьшалось с 13.3 ± 0.2 клеток в контрольной группе до 9.8 ± 0.1 клеток в токсической группе и 9.4 ± 0.1 клеток в лекарственной группе ($p < 0.05$). Также, уменьшение количества Ki-67-положительных клеток обнаружено в спонгиозотрофобласте базальной зоны плаценты подопытных животных токсической группы. Если в контроле данный показатель составил 2.1 ± 0.1 клетки, то в группе с токсическим и лекарственным поражением печени – 1.9 ± 0.1 и 1.7 ± 0.01 ($p < 0.05$) клетки соответственно. Результаты исследования экспрессии Vcl-2 в цитоплазме трофобласта свидетельствуют о том, что патология печени различного генеза обуславливает снижение оптической плотности экспрессии данного белка. Так, в интактной группе оптическая плотность Vcl-2 была равна 0.20 ± 0.01 у.е., в то время как в группе с токсическим поражением печени – 0.13 ± 0.01 у.е. ($p < 0.05$), а в группе с парацетамол-индуцированной патологией печени – 0.14 ± 0.01 у.е. ($p < 0.05$). При анализе апоптотической активности в клетках трофобласта плацент экспериментальных животных обнаружены противоположные изменения. Если в контрольной группе оптическая плотность экспрессии белка p-53 составила 0.14 ± 0.02 у.е., то в токсической и лекарственной группах – 0.34 ± 0.03 у.е. и 0.36 ± 0.05 у.е. ($p < 0.05$) соответственно.

В специальной серии исследования нами проведено изучение влияния патологии гепатобилиарной системы различного генеза на проницаемость мембран плацентарного барьера. Полученные данные свидетельствуют о повышении проницаемости клеточных мембран. Так, в группе с токсическим поражением печени количество гранул красителя трипанового синего на единицу площади в

синцитиотрофобласте составило 123.7 ± 2.1 гранулы, в цитотрофобласте – 97.3 ± 1.8 гранулы. В лекарственной группе получены аналогичные данные – в синцитиотрофобласте количество гранул было равно 88.2 ± 4.8 , а в цитотрофобласте – 56.2 ± 2.8 . При этом нужно отметить, что в плацентах контрольной группы гранулы красителя не были обнаружены ни в синцитиотрофобласте, ни в цитотрофобласте.

Выводы

Результаты исследования демонстрируют, что у животных с экспериментальным поражением печени различного генеза в клетках спонгиотрофобласта и клетках цитотрофобласта достоверно снижена пролиферативная активность. Эти данные, наряду со снижением экспрессии антиапоптотического белка Bcl-2 и повышением уровня экспрессии проапоптотического белка p-53 могут говорить о нарушении в плацентарной ткани процессов клеточного обновления.

Кроме того, в ходе исследования обнаружено увеличение проницаемости мембран плацентарного барьера, что проявляется в проникновении гранул красителя в цитоплазму синцитио- и цитотрофобласта лабиринта, что способно негативно сказаться на условиях внутриутробного развития плода.

Полученные данные, наряду с выявленными нами ранее [2] морфологическими перестройками в плацентах животных с токсической патологией печени (уменьшением удельного объема лабиринта, гигантских клеток, материнских синусоидов базальной зоны, материнских лакун, фетальных капилляров и трофобласта лабиринта), могут свидетельствовать, на наш взгляд, о развитии плацентарной недостаточности.

Список литературы

1. Аршавский И. А. Очерки по возрастной физиологии / И. А. Аршавский. М.: Медицина, 1967. 476 с.

2. Брюхин Г. В. Морфологическая характеристика плаценты крыс с экспериментальным токсическим поражением печени / Г.В. Брюхин, Р.К. Абдильдин // Фундаментальные исследования. 2015. № 2–9. С. 1887–1890.
3. Брюхин Г. В. Роль экспериментального поражения печени матери в развитии физиологической незрелости потомства / Г.В. Брюхин, М.Л. Сизоненко // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2012. № 11. С. 544–546.
4. Брюхин Г. В. Активность внеклеточных ловушек макрофагов различных компартментов у потомства самок крыс с лекарственным поражением печени / Г.В. Брюхин, А.В. Шопова // Иммунология. 2013. Т. 34, № 6. С. 304–308.
5. Венгеровский А. И. Методические указания по изучению гепатозащитной активности фармакологических веществ: рук-во по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / А.И. Венгеровский, И.В. Маркова, А.С. Саратиков. М.: Медицина, 2005. 832 с.
6. Кулида Л. В. Роль плацентарных факторов в формировании перинатальной патологии при различных степенях тяжести гестоза / Л.В. Кулида, И.А. Панова, Л.П. Перетятко // Архив патологии. 2005. Т. 67, № 1. С. 17–21.
7. Экстраэмбриональные и околоплодные структуры при нормальной и осложненной беременности: колл. моногр. / В.Е. Радзинский [и др.] ; под ред. проф. В.Е. Радзинского и проф. А.П. Милованова. М.: Медицинское информационное агентство, 2004. 393 с.
8. Саркисов Д. С. Воспроизведение болезней человека в эксперименте / Д.С. Саркисов, П.И. Ремизов. М.: Медицина, 1960. 790 с.

Информация об авторах

Абдильдин Руслан Касымбекович – лаборант кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии ГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России. 454048, г. Челябинск, ул. Воровского, 64. ruslan.abdildin@mail.ru

Брюхин Геннадий Васильевич – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии ГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России. 454048, г. Челябинск, ул. Воровского, 64.

Поступила в редакцию 11.04.2016 г.