

ГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КЛЕТОК ПЛАЦЕНТЫ САМОК КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ПОРАЖЕНИЕМ ПЕЧЕНИБрюхин Г.В.¹, Абдильдин Р.К.²**THE HISTOCHEMICAL DESCRIPTION OF PLACENTAL CELLS OF FEMALE RATS WITH EXPERIMENTAL LIVER LESION**

BRYUKHIN G.V., ABDILDIN R.K.

¹Кафедра гистологии, эмбриологии и цитологии (зав. кафедрой – профессор Г.В. Брюхин) ГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, г. Челябинск; ²кафедра микробиологии, иммунологии и общей биологии (зав. кафедрой – профессор А.Л. Бурмистрова) ФГБОУ ВПО «Челябинский государственный университет» Минобрнауки, г. Челябинск.

В исследовании с помощью гистохимического метода изучено содержание веществ в клетках плацент крыс с экспериментальным парацетамол-индуцированным поражением печени. На парафиновых и криостатных срезах выявляли суммарные белки, гликоген, липиды, сукцинатдегидрогеназу и щелочную фосфатазу, содержание которых выражали в условных единицах оптической плотности. Полученные данные свидетельствуют, что патология печени в условиях эксперимента обуславливает изменение содержания выявляемых веществ в трофобласте лабиринта, а также в гигантских и спонгиозотрофобластических клетках базальной зоны. В клетках цитотрофобласта лабиринтной зоны выявлено уменьшение оптической плотности общих белков, углеводов и сукцинатдегидрогеназы. Кроме того, обнаружено снижение содержания суммарных липидов, углеводов и сукцинатдегидрогеназы в спонгиозотрофобласте и гигантских клетках базальной зоны.

Ключевые слова: крыса, патология печени, плацента, общие белки, гликоген, липиды, сукцинатдегидрогеназа, щелочная фосфатаза.

We studied the substances content in placental cells of rats with experimental paracetamol-induced liver lesion in a study using histochemical method. We revealed total proteins, glycogen, lipids, succinate dehydrogenase and alkaline phosphatase expressed as optical density in conventional units on paraffin and frozen sections. The findings suggest that liver lesion in the experiment causes changing of

substances content in trophoblast of labyrinth, as well as in giant and spongiotrophoblast cells of the basal zone. We revealed a reduction of the optical density of total proteins, carbohydrates and succinate dehydrogenase in the cytotrophoblast cells of the labyrinth zone. In addition, we found a decrease in the content of total lipids, glycogens and succinate dehydrogenase in spongiotrophoblast and giant cells of the basal zone.

Key words: rat, liver pathology, placenta, total proteins, glycogen, lipids, succinate dehydrogenase, alkaline phosphatase.

Введение. Известно, что в развитии адаптационных реакций плода на воздействие неблагоприятных факторов активное участие принимает плацента, обеспечивающая функциональное взаимодействие матери и плода [1]. В настоящее время широко распространена концепция «плацентарной недостаточности» как одной из главных причин задержки роста и развития плода [2, 3]. Среди многочисленных факторов, приводящих к нарушению формирования плаценты, выраженным биохимическим и морфологическим изменениям и, как следствие, к ее дисфункции, особую роль играют экстрагенитальные заболевания [4]. Ранее нами было установлено, что экспериментальная патология печени самок крыс вызывает морфологические изменения в плаценте [5].

Цель исследования – анализ оптической плотности липидов, белков, гликогена, сукцинатдегидрогеназы и щелочной фосфатазы в клетках плаценты крыс с экспериментальным поражением печени.

Материал и методы исследования. Исследование проведено на самках белых беспородных лабораторных крыс. Экспериментальные животные были поделены на 2 группы: 1) интактные самки (контрольная группа) – 10 животных, от которых получено 10 плацент; 2) самки с экспериментальной патологией печени (подопытная группа) – 10 животных, 10 плацент. Модель

поражения печени создавали путем введения в течение 2 дней парацетамола на 1 % крахмальном клейстере в дозе 2,5 г на кг массы тела животного [6]. Работа с экспериментальными животными, а также выведение их из эксперимента проводились в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приказ МЗ СССР от 12.08.1977 № 755).

Для получения плацент самок подсаживали к интактным самцам. Первый день беременности определяли с момента обнаружения сперматозоидов во влагалищном мазке. На 21-й день беременности самки выводились из эксперимента с помощью ингаляционного наркоза и декапитации. Выделенные плаценты фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине и замораживали для получения криостатных срезов. Парафиновые срезы толщиной 5-7 мкм окрашивали на общие белки раствором амидочерного 10В [7] и гликоген с помощью ШИК-реакции по Мак-Манусу [8]. Суммарные липиды выявляли раствором судана черного В по методу Лизона [9]. СДГ выявляли в криостатных срезах по Нахласу [8], активность ЩФ – методом азосочетания [10]. Оптическую плотность веществ определяли с помощью методики «Оптическая плотность с вводом фоновых полей» программы ВидеоТест-Морфология 5.0 и выражали в условных единицах. В качестве фона вводилось изображение чистого предметного стекла. При обработке полученных результатов использовались методы вариационной статистики: определение среднего арифметического и его стандартной ошибки. Значимость различий оценивали с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни.

Результаты исследования и их обсуждение. В гемохориальной плаценте белой крысы выделяют две основные зоны: базальный отдел, представленный гигантскими клетками трофобласта, клетками спонгиотрофобласта, «гликогенными островками» и материнскими лакунами, и лабиринтный отдел, в состав которого входят плодовые капилляры, лакуны с материнской кровью и синцитиотрофобласт, представляющий собой гематоплацентарный барьер у грызунов [11]. Результаты исследования показали, что в клетках плацент крыс на 21 день беременности после введения парацетамола содержание суммарных белков, липидов и гликогена было неоднозначно. Так, в спонгиотрофобластических клетках оптическая плотность белков составила $0,69 \pm 0,02$ у.е., в то время как в контроле данный показатель был равен $0,44 \pm 0,012$ у.е. ($p \leq 0,05$). Аналогичные изменения обнаружены в гигантских клетках ($0,75 \pm 0,02$ у.е. в подопытной группе и $0,52 \pm 0,004$ у.е. в группе контроля, при $p \leq 0,05$). В синцитиотрофобласте лабиринта, в то же вре-

мя, выявлено снижение содержания суммарных белков: если в клетках плаценты крыс контрольной группы оптическая плотность составила $0,57 \pm 0,01$ у.е., то в группе с поражением печени она снизилась до $0,53 \pm 0,01$ у.е. ($p \leq 0,05$), что может говорить о нарушении белоксинтезирующей функции синцитиотрофобласта и, как следствие, о снижении синтеза в плаценте гормонов белковой природы [12].

Постановка ШИК-реакции выявила снижение оптической плотности гликогена в гигантских клетках базального отдела ($0,36 \pm 0,012$ у.е. в контроле и $0,14 \pm 0,01$ в подопытной группе, при $p \leq 0,05$). В спонгиотрофобластических клетках базального отдела выявлено также уменьшение содержания гликогена ($0,30 \pm 0,003$ в интактной группе и $0,25 \pm 0,01$ в группе с патологией печени). Кроме того, снижение оптической плотности гликогена отмечено в синцитиотрофобласте лабиринта – с $0,51 \pm 0,012$ у.е. до $0,29 \pm 0,011$ у.е. ($p \leq 0,05$), что, по нашему мнению, способно обусловить возникновение энергетического дефицита у плода.

Изменения в липидном обмене проявились в снижении содержания общих липидов в клетках трофобласта базальной зоны. Так, в контрольной группе оптическая плотность липидов в спонгиотрофобласте в 1,4 раза превышает данный показатель в токсической группе ($0,41 \pm 0,015$ у.е. и $0,29 \pm 0,020$ у.е., при $p \leq 0,05$, соответственно), что, на наш взгляд, может свидетельствовать о нарушении синтеза плацентой стероидных гормонов [12]. В трофобласте лабиринта обнаружено незначительное увеличение оптической плотности липидов ($0,50 \pm 0,01$ у.е. в контрольной группе и $0,51 \pm 0,02$ у.е. в подопытной группе).

Постановка реакции на выявление СДГ выявила снижение активности фермента в клетках трофобласта базальной зоны, трофобласта лабиринта. Так, оптическая плотность СДГ в спонгиотрофобласте контрольной группы превышает аналогичный показатель в подопытной группе в 2,6 раза ($0,37 \pm 0,01$ у.е. и $0,14 \pm 0,01$ у.е., соответственно). Аналогичная закономерность обнаружена в клетках трофобласта лабиринта. Если в контрольной группе оптическая плотность фермента составила $0,31 \pm 0,01$ у.е., то в подопытной группе данный показатель подвергся снижению в 1,4 раза и был равен $0,22 \pm 0,01$ у.е. Вместе с тем, оптическая плотность СДГ в гигантских клетках базальной зоны подопытной группы не отличалась от контрольных значений. Выявленные закономерности, по нашему мнению, могут свидетельствовать о нарушении окислительных процессов, которые влекут за собой изменение энергетического обмена.

Изучение в клетках плаценты активности ЩФ, являющейся важным звеном механизма

регуляции энергетического обмена по принципу фосфорилирование-дефосфорилирование, выявило значительные сдвиги в клетках трофобласта базальной зоны и лабиринта. Так, оптическая плотность фермента в спонгиозотрофобластических клетках в подопытной группе превышает аналогичный показатель контрольной группы в 1,4 раза ($0,18 \pm 0,01$ у.е. и $0,13 \pm 0,01$ у.е. при $p < 0,05$, соответственно). В клетках трофобласта лабиринтной зоны обнаружены противоположные изменения – $0,26 \pm 0,01$ у.е. в интактной группе и $0,16 \pm 0,01$ у.е. ($p < 0,05$) в группе с лекарственным поражением печени. Интересно отметить, что в гигантских клетках изменений оптической плотности не обнаружено.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют, что экспериментальное лекарственное поражение печени, обусловленное введением парацетамола, вызывает изменение гистохимических показателей в клетках плацент. Снижение содержания выявляемых веществ коснулось, в первую очередь, синцитиотрофобласта лабиринтного отдела, который составляет основу гематоплацентарного барьера у крыс и через который происходит функциональная интеграция организмов матери и плода [11]. Полученные данные согласуются с литературными. Так, сочетанное действие пороговых концентраций ацетона и высокой влажности воздуха приводит к снижению в синцитиотрофобласте активности ЩФ, СДГ, фосфолипидов, гликопротеидов и суммарных белков, что проявилось в снижении массы плацент, размеров и массы эмбрионов [13]. Кроме того, снижение содержания гликогена и торможение активности СДГ обнаружено в плацентах животных с ФПН, что свидетельствует о субстратно-метаболической депривации, дискоординации в цикле Кребса и, как следствие, развитии энергетического дефицита [14]. В связи с этим, логично предположить, что выявленные нами функциональные изменения в клетках плаценты различных компартментов свидетельствуют о развитии плацентарной недостаточности у крыс с экспериментальным лекарственным поражением печени, что может обусловить рождение физиологически незрелого потомства [15].

ЛИТЕРАТУРА:

1. Бурлев В.А., Зайдиева З.С., Тютюнник В.Л., Лапшина И.И. Клинико-диагностическое значение плацентарной щелочной фосфатазы у беременных // Проблемы репродукции. – 2000. – № 5. – С. 56-60.
2. Быстрицкая Т.С., В.П. Луценко, Д.С. Лысяк, В.П. Колосов. Плацентарная недостаточность – Благовещенск: Изд-во Амурской государственной медицинской академии, 2010. – 136 с.

3. Качалина Т.С., Третьякова Е.В., Пак С.В., Каткова Н.Ю. Хроническая плацентарная недостаточность: учебно-методическое пособие – Нижний Новгород: Изд-во Нижегородской государственной медицинской академии, 2008. – 72 с.
4. Колобов А.В., Цинзерлинг В.А., Смирнова Е.А., Рощупкина И.А. Плацента человека. Морфофункциональные основы: учебное пособие – СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2011. – 80 с.
5. Брюхин Г.В., Абдильдин Р.К. Морфология плаценты крыс с экспериментальным поражением печени // Вопросы морфологии XXI века. – 2015. – № 4. – С. 103-105.
6. Венгеровский А.И., Маркова И.В., Саратиков А.С. Методические указания по изучению гепатопротекторной активности фармакологических веществ // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – 2005. – С. 683-691.
7. Буданцев А.Ю. Основы гистохимии. Пуццо: Пуццинский гос. ун-т, 2008. URL: http://window.edu.ru/window/library?p_rid=59159 (дата обращения: 20.08.2014).
8. Пирс Э. Гистохимия. Теоретическая и прикладная / Э. Пирс. – М.: Изд-во иностранной литературы, 1962. – 966 с.
9. Луппа Х. Основы гистохимии. – М.: Изд-во «Мир», 1980. – 343 с.
10. Берстон М. Гистохимия ферментов. – М.: Изд-во «Мир», 1965. – 464 с.
11. Furukawa S., Hayashi S., Usuda K., Abe M., Hagio S., Ogawa I. Toxicological pathology in the rat placenta // Journal of toxicological pathology. – 2011. – Vol. 24. – P. 95-111.
12. Кветной И.М., Айламазян Э.К., Лапина Е.А., Колобов А.В. Сигнальные молекулы – маркеры зрелости плаценты – М.: МЕДпресс-информ, 2005. – 96 с.
13. Ковалева И.В. Реакция плаценты крысы на ингаляцию ацетона: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.01 / Ирина Викторовна Ковалева. – Владивосток, 1994. – 19 с.
14. Беленичев И.Ф., Павлов С.В., Абрамов А.В., Бухтиярова Н.В., Горбачева С.В., Зуева Д.А. Исследование ноотропной и нейропротективной активности Тиоцетама в условиях моделирования фетоплацентарной недостаточности // Международный неврологический журнал. – 2008. – № 6. – С. 34-46.
15. Брюхин Г.В., Сизоненко М.Л. Роль экспериментального поражения печени матери в развитии физиологической незрелости потомства // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2012. – № 11. – С. 544-547.

Авторская справка:

1. Брюхин Геннадий Васильевич - доктор

медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии ГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 454048, г. Челябинск, ул. Воровского, д. 64, тел. +79222375820, Email: BGenVas@mail.ru

2. Абдильдин Руслан Касымбекович, аспирант кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии ФГБОУ ВПО «Челябинский государственный университет», 454021, г. Челябинск, Комсомольский пр-т, д. 81, кв. 15, тел. +79518128105, Email: ruslan.abdildin@mail.ru