

ОСОБЛИВОСТІ СТРУКТУРНОЇ ПЕРЕБУДОВИ ФЕТОПЛАЦЕНТАРНОГО**БАР'ЄРУ ПРИ ВПЛИВІ СПОЛУК СВИНЦЮ****Державний заклад «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»****(м. Дніпропетровськ)**

Дане дослідження є фрагментом НПР ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»: «Особливості формування репродуктивного здоров'я населення внаслідок впливу техногенно забрудненого довкілля та шкідливих професійних факторів», № державної реєстрації 0111U009620.

Вступ. Екологічне неблагополуччя більшості країн Світу на сьогоднішній день є одним із провідних чинників порушення репродуктивної функції жінки та фактором ризику здоров'я дитини [12]. Серед найбільш небезпечних техногенних забрудників довкілля пріоритетне положення займають важкі метали, в першу чергу – свинець [7]. Тому особливий інтерес представляє вивчення функціональних можливостей захисних систем, що попереджують надходження в організм плоду ксенобіотиків або сприяють їх дезактивації. Одним із таких органів є плацента [1, 2, 6]. Тривалий контакт під час вагітності з токсикантами, навіть на рівні порогових та підпорогових значень, призводить до пошкодження фетоплацентарного комплексу і формування внутрішньоутробних дизадаптивних процесів, що в подальшому реалізуються ускладненнями вагітності, пологів та післяпологового періоду [7, 8].

Слід зазначити, що плацента самиці щура, так само як і плацента людини, є гемохоріальною [11]. Тож виявлення закономірностей її морфогенезу при фізіологічній вагітності та за умов впливу сполук свинцю може сприяти виявленню гістофізіологічних аспектів плацентациї ссавців та людини, що і обумовило мета нашого дослідження.

Мета дослідження – визначити особливості впливу різних форм свинцю на структурну організацію та стан фетоплацентарного бар'єру в експериментальних умовах.

Об'єкт і методи дослідження. Експериментальні дослідження проведені на самицях щурів лінії Wistar. Після 12-денного карантину 30 тварин зі стійким ритмом естрального циклу віком 3-3,5 міс. з масою тіла 170-200 г в стадії проєструс і еструс парували з інтактними самцями за схемою 2:1 [3]. Дослідження проводили відповідно до Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (Київ, 2001), «Загальних етичних принципів експериментів

на тваринах» (Київ, 2009), які узгоджуються з Європейською конвенцією про захист експериментальних тварин [10].

Самиць щурів з датованим терміном вагітності розподілили на 3 групи. Одна (група №1) – контрольна, що отримувала дистильовану воду, дві – дослідні, яким за допомогою внутрішньошлункового зонду щоденно з 1 по 19 день вагітності вводили препарати свинцю у дозі 0,05 мг/кг: група №2 – у вигляді неорганічної сполуки (ацетат свинцю), група №3 – у вигляді органічної сполуки (цитрат свинцю, отриманий за аквананотехнологією в НДІ Нанобіотехнологій та ресурсозбереження України (м. Київ)). На 20-й день вагітності тварин виводили з експерименту під тіопенталовим наркозом і проводили забір біологічних матеріалів для виконання подальших досліджень. Виділяли матку з рогами, плоди з плацентами вилучали з матки, вимірювали масу та діаметр плацент, масо-ростові параметри та діаметр тіла плодів, розраховували плодово-плацентарний коефіцієнт [3]. Для проведення гістологічного та гістоморфометричного досліджень плаценту щурів фіксували у 10%-вому розчині нейтрального формаліну, зневоднювали з подальшим виготовленням парафінових блоків. Гістологічні зрізи товщиною 5мкм забарвлювали гематоксиліном-еозином.

Усі отримані в роботі цифрові дані обробляли комп'ютерними ліцензійними програмами Microsoft Excel та Statistica. Достовірність відмінностей визначали за t-ритерієм Стьюдента.

Результати досліджень та їх обговорення. Аналіз морфометричних показників розвитку плаценти контрольної та дослідних груп (**табл.**) свідчать, що середня маса плацент усіх груп піддослідних тварин коливається в межах $0,43 \pm 0,01 - 0,59 \pm 0,02$ г. Не зважаючи на деяку тенденцію до зниження масометричних параметрів плацент у щурів, що отримували ацетат свинцю, ці відмінності виявились недостовірними, на відміну від результатів досліджень інших вчених [2], у яких маса та діаметр плацент при введенні ацетату свинцю були статистично нижчими порівняно з контрольною групою. Така ситуація, на нашу думку, обумовлена дозою ацетату свинцю, що використовувалась авторами – 45 мг/кг, що складає близько 1/30

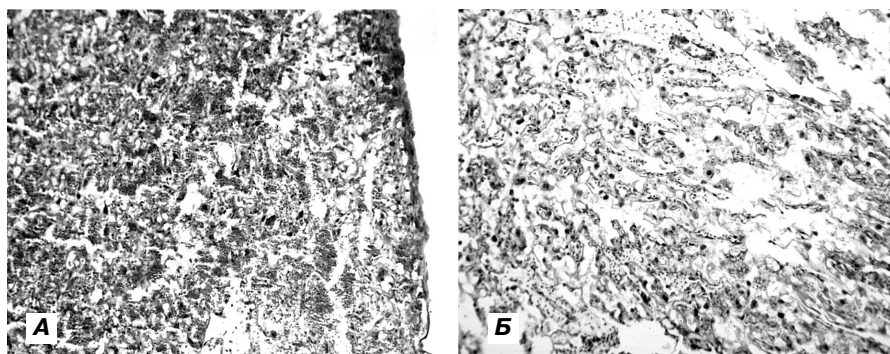


Рис. 1. Плацента щура експериментальної групи, що отримувала ацетат свинцю (А) та цитрат свинцю (Б) на 20-у добу вагітності. Лабіринтна зона. Забарвлення гематоксиліном-еозином. $\times 200$.

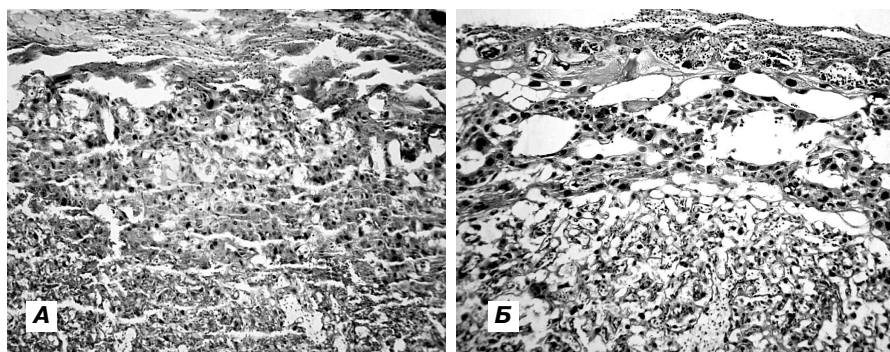


Рис. 2. Плацента щура експериментальної групи, що отримувала ацетат свинцю (А) та цитрат свинцю (Б) на 20-у добу вагітності. Спонгіотрофобластична та децидуальна зони. Забарвлення гематоксиліном-еозином. $\times 200$.

За даними [8] така величина коефіцієнту свідчить про зрілість фетоплацентарного комплексу і спостерігається наприкінці вагітності щурів та обумовлена значним зростанням маси тіла плодів на 21-22 день, тобто перед пологами. В той же час в наших дослідженнях при однаковому з іншими групами терміні вагітності маса тіла плодів залишилася практично незмінною при значно нижчих морфометричних показниках плаценти, що може бути обумовлено вираженою ішемією органу та нижчими адаптаційно-компенсаторними можливостями плаценти при впливі органічних сполук металу порівняно з його неорганічною формою.

Для виявлення особливостей патоморфологічних змін у плаценті під впливом різних форм свинцю проведено гістологічні та гістоморфометричні дослідження, які свідчать про розвиток дисциркуляторних та дистрофічно-дегенеративних змін гістоструктури усіх зон плаценти при збереженні загального плану будови органу. За умови введення ацетату свинцю товщина лабіринтної зони плаценти, що являє собою власне гемато-плацентарний бар'єр, який приймає участь в параплацентарному обміні між материнською та дитячою кров'ю [6], перевищувала аналогічні показники при фізіологічній вагітності на 28,3% ($p < 0,05$). При цьому відбувається зниження кількості та ступеня розвитку плодкових капілярів, вони містили

Таблиця

Морфометричні показники плацент тварин контрольної та дослідних груп ($M \pm m$)

Показники	Групи експериментальних тварин		
	№1 контроль	№2 ацетат свинцю	№3 цитрат свинцю
Маса плаценти, г	0,59 \pm 0,02	0,57 \pm 0,02	0,43 \pm 0,01*
Діаметр плаценти, см	1,51 \pm 0,04	1,44 \pm 0,03	1,40 \pm 0,02*
Плодово-плацентарний коефіцієнт, ум. од.	0,24	0,25	0,17*
Товщина плаценти, мкм	2537,3 \pm 163,7	2867,5 \pm 185,4	1974,7 \pm 157,4*
Товщина лабіринтної зони, мкм	1945,7 \pm 184,2	2496,4 \pm 203,7*	1568,3 \pm 155,8
Товщина спонгіотрофобласту, мкм	452,6 \pm 48,2	221,8 \pm 52,9**	228,6 \pm 46,5*
Товщина децидуального шару, мкм	139,4 \pm 71,1	149,3 \pm 74,5	177,8 \pm 61,4

Примітка: * – розбіжності з контрольною групою достовірні ($p < 0,05$), ** - ($p < 0,01$).

LD₅₀ та унеможливує розвиток адаптаційно-компенсаторних процесів у плаценті на фоні вираженої загальнотоксичної дії металу на організм самки щура.

В той же час масометричні параметри плацент у групі, що отримувала цитрат свинцю, виявились достовірно нижчими порівняно з контрольною групою: маса – на 27,1% ($p < 0,001$), діаметр – на 7,3% ($p < 0,05$). Така ситуація обумовлює зниження у 1,4 разу ($p < 0,05$) плодово-плацентарного коефіцієнту в даній дослідній групі порівняно з групою, що отримувала ацетат свинцю та контрольною групою.

малу кількість формених елементів крові й місцями були порожніми, спустошеними (рис. 1-А), що є свідченням ішемії органу [2, 11]. Також нерідко для капілярів характерним був розвиток сладж-синдрому еритроцитів. На фоні зниження кількості фетальних капілярів спостерігалась дилатація материнських лакун, що свідчить про включення адаптаційно-компенсаторних процесів у плаценті. Проте виражене повнокрів'я лакун призводить до уповільнення кровотоку та розвитку стазів еритроцитів та тромбозу

в них, а тому механізми зазначеної адаптації мало-ефективні [6].

Пошкодження структури трофобласту, що виконує функцію плацентарного бар'єру у щурів, проявляється зменшенням кількості та деформацією мікроворсинок, а також значним накопиченням депозитів фібрину навколо ворсин у порівнянні з контролем. Загальна товщина плаценти у групі, що отримувала цитрат свинцю, виявилась на 22,1% ($p < 0,05$) нижчою від показників контрольної групи. При цьому товщина лабіринтної зони характеризувалась тенденцією до зниження на 19,4% за рахунок істотного зниження кількості і об'єму материнських та фетальних капілярів (рис. 1-Б). Судини мали малу кількість формених елементів, були спустошеними та місцями зовсім спадалися. У трофобласті лабіринтної зони виявлялося значне накопичення депозитів фібрину навколо ворсин, мікроворсини були слабко розвиненими. В деяких ділянках цитотрофобласту поряд із дистрофічними виявлялися також некротичні зміни. Кількість гігантських клітин лабіринту з великим щільним ядром була знижена. Вищеперераховані зміни, ймовірно, є наслідком вираженої ішемії і кисневого голодування та можуть свідчити про зниження трансплацентарного транспорту в даній зоні [2].

Товщина спонгіотрофобласту щурів при введенні сполук свинцю виявилась на 49,5% – 50,9% ($p < 0,05$) меншою за норму. У спонгіозній зоні спостерігалися гідропічна дистрофія спонгіотрофобластів, гіперхроматоз та руйнування їх ядер, дегенеративні зміни неглікогенних клітин, вогнища некрозу, крововиливів та місцями набряк строми (рис. 2-А). Також відзначалося посилення руйнування в острівках глікогенних клітин, на місцях яких утворювались порожнини. Кількість гранул глікогену в них була нижчою за контроль. Шар гігантських клітин трофобласту був значно звужений та складався переважно з одного ряду дрібних клітин, у цитоплазмі яких були наявні чисельні вклучення, що свідчить про збільшення фагоцитарної активності клітин. При введенні цитрату свинцю (рис. 2-Б), крім того, спостерігалось зниження кількості спонгіотрофобластичних клітин, вони розташовувалися пухко, формуючи порожнини та розриви.

Серед скупчень лейкоцитів виявлялись некротично змінені та клітини з пікнотичними ядрами.

Товщина децидуальної зони при введенні сполук свинцю достовірно не відрізнялась від показників контрольної групи, проте світлооптичне дослідження виявило збільшення вогнищ некрозу та відкладання депозитів фібрину. Питома кількість гранул ліпідів та питомий об'єм глікогену у децидуальних клітинах були значно знижені.

Висновки. Введення сполук свинцю у дозі 0,05 мг/кг самицям щурів протягом усього періоду вагітності обумовлює зміни структурної організації плаценти з розвитком дисциркуляторних та дистрофічно-дегенеративних процесів. Вищезазначені зміни, на нашу думку, складають патоморфологічний субстрат розвитку плацентарної недостатності при дії сполук свинцю, що супроводжується підвищенням ембріолетальності, зменшенням кількості плодів у посліді та затримкою їх внутрішньоутробного розвитку [1].

В основі патогенезу даного процесу, ймовірно, лежить незавершена гестаційна перебудова материнських та фетальних капілярів, яка супроводжується зменшенням васкуляризації та розвитком дисциркуляторних розладів в плаценті. При цьому структурна організація плаценти у групі щурів, що отримували цитрат свинцю, характеризується більш вираженими дистрофічно-ішемічними змінами порівняно з дією ацетату свинцю.

Суттєве зменшення питомого обсягу глікогенних клітин є додатковою ознакою структурної незрілості плацент. Крім того, зниження кількості глікогену в усіх зонах вказує на дефіцит енергетичного субстрату для забезпечення активного транс- і параплацентарного транспорту [6, 8, 11]. Циркуляторна гіпоксія приводить до пошкодження структури клітин трофобласту, що в свою чергу веде до порушення транспортної, бар'єрної та трофічної функцій плаценти.

Перспективою наших подальших досліджень є виявлення особливостей трансплацентарної міграції і кумуляції органічних та неорганічних сполук свинцю, ступеня їх впливу на вираженість порушень гістоструктури плаценти.

Література

1. Білецька Е. М. Вплив свинцю у макроформі і у вигляді цитрату, отриманого за нанотехнологією, на перебіг вагітності та антенатальний розвиток щурів / Е. М. Білецька, Н. М. Онул // Медицина сьогодні і завтра. – 2013. – № 2 (59). – С. 5-9.
2. Грызлова Л. В. Влияние свинцовой интоксикации на морфофункциональное развитие плаценты / Л. В. Грызлова // Матер. IV Междунар. конфер., посв. 100-летию со дня рождения академика РАСХН Н. А. Шманенкова. – Боровск, 2006. – С. 233-234.
3. Динерман А. А. Роль загрязнителей окружающей среды в нарушении эмбрионального развития / А. А. Динерман. – М.: Медицина, 1980. – 191 с.
4. Морфофункциональные особенности плаценты в условиях воздействия свинца [Куликова Г. В., Бубнова Н. И., Узбеков М. Г., Карпачевская И. К.]. Мать и дитя: материалы IV Рос. науч. форума. – Москва, 2002. – С. 363-364.
5. Плацентарная дисфункция на фоне эндокринной патологии / [Щербаков А. Ю., Тихая И. А., Щербаков В. Ю., Новикова Е. А.] // Международный медицинский журнал. – 2012. – № 3. – С. 50-53.
6. Саломейна Н. В. Структурные основы материнско-плодовых отношений при химическом воздействии в эмбриогенезе / Н. В. Саломейна, С. В. Машак // Медицина и образование в Сибири. – 2012. – № 1. [Эл. ресурс.]. Режим доступа: <http://www.ngmu.ru/cozo/mos/archive/catalog.php?rub=17>
7. Тяжелые металлы внешней среды и их влияние на репродуктивную функцию женщин / [Сердюк А. М., Белицкая Э. Н., Паранько Н. М., Шматов Г. Г.]. – Днепропетровск : АРТ-ПРЕСС, 2004. – 148 с.

8. Шубина О. С. О взаимодействии в системе плацента-плод / О. С. Шубина, Н. А. Смертина // Успехи современного естествознания. – 2008. – № 8. – С. 110.
9. Beletskaya E. N. Morphological changes of fetoplacental barrier during lead intoxication and under the condition of correcting zinc influence / E. N. Beletskaya, N. M. Onul // Austrian Journal of Technical and Natural Sciences. – 2014. – № 5-6. – P. 38-42.
10. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Strasburg, 1986. – 53 p.
11. Hansen A. R. Very low birthweight placenta: clustering of morphologic characteristics / A. R. Hansen, M. H. Collins // Pediatr. Dev. Pathol. – 2000. – Vol. 3, № 5. – P. 431-438.
12. Mendola P. Science linking environmental contaminant exposures with fertility and reproductive health impacts in the adult female / P. Mendola, L. C. Messer, K. Rappazzo // Fertility and sterility. – 2008. – Vol. 89, № 2. – P. 81-94.

УДК 618.46:661.852:576.31

ОСОБЛИВОСТІ СТРУКТУРНОЇ ПЕРЕБУДОВИ ФЕТОПЛАЦЕНТАРНОГО БАР'ЄРУ ПРИ ВПЛИВІ СПОЛУК СВИНЦЮ

Онул Н. М.

Резюме. В результаті дослідження встановлено, що введення свинцю в дозі 0,05 мг/кг протягом вагітності викликає патологічні зміни в усіх зонах плаценти, що позначається на стані гемато-плацентарного бар'єру. Дія ацетату свинцю обумовлює розвиток дисциркуляторних та дистрофічно-дегенеративних змін гістоструктури плаценти, при цьому найбільші зміни спостерігаються у лабиринтній зоні. Структурна організація плаценти у групі щурів, що отримували цитрат свинцю, характеризуються більш вираженими дистрофічно-ішемічними змінами порівняно з ацетатом свинцю, що обумовлює достовірне зменшення плодово-плацентарного коефіцієнту у 1,4 разу, зниження масометричних показників плаценти на 7,3-27,1 %, виражене порушення гістоструктури і товщини усіх її зон.

Ключові слова: ксенобіотик, ацетат свинцю, цитрат свинцю, патоморфологічні зміни, гістоструктура плаценти.

УДК 618.46:661.852:576.31

ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРНОЙ ПЕРЕСТРОЙКИ ФЕТОПЛАЦЕНТАРНОГО БАРЬЕРА ПРИ ВЛИЯНИИ СОЕДИНЕНИЙ СВИНЦА

Онул Н. М.

Резюме. В результате исследования установлено, что введение свинца в дозе 0,05 мг/кг в течение беременности вызывает патологические изменения во всех зонах плаценты, что сказывается на состоянии гемато-плацентарного барьера. Действие ацетата свинца обуславливает развитие дисциркуляторных и дистрофически-дегенеративных изменений гистоструктуры плаценты, при этом наибольшие изменения наблюдаются в лабиринтной зоне. Структурная организация плаценты в группе крыс, получавших цитрат свинца, характеризуется более выраженными дистрофически-ишемическими изменениями по сравнению с влиянием ацетата свинца, что обуславливает достоверное снижение плодово-плацентарного коэффициента в 1,4 раза, уменьшение масометрических показателей плаценты на 7,3-27,1 %, выраженное нарушение гистоструктуры и толщины всех зон плаценты.

Ключевые слова: ксенобиотик, ацетат свинца, цитрат свинца, патоморфологические изменения, гистоструктура плаценты.

UDC 618.46:661.852:576.31

Peculiarities of Structural Adjustment of Fetoplacental Barrier under Influence of Lead Compounds

Onul N. M.

Abstract. Negative changes in public health on the background of demographic crisis determine raised scholarly attention to the problem of «environment – human health». Female reproductive system is highly sensitive to the influence of factors of external and internal environments, especially during pregnancy. However, the mechanism of toxic influence of different xenobiotics, particularly lead, as global toxicant, on the structural changes in the placenta as a basis for further development of placental dysfunction have not completely elucidated.

This served as *purpose of research* – to determine features of the influence of various lead compounds on the structural organization and the state of the fetoplacental barrier in experimental conditions.

Materials and methods. Experimental studies, using female Wistar rats aged 3-3.5 months with body weight 170-200 g were performed. The experiments carried out in compliance with the European Convention on experimental studies using vertebrate animals. Rats with dated gestation were divided into 3 groups: 1 group – control, animals of which received distilled water, 2 groups – research, animals of which during 19 days of pregnancy were injected with lead acetate and lead citrate, obtained using nanotechnology, by intragastric tube in a doses of 0.05 mg/kg. Animals were taken out of the experiment at twentieth day using thiopental anesthesia and performed sampling of biological materials – uterus, placentas, fetuses. Their weight and diameter were measured, fetal-placental ratio was calculated, histological and histomorphometrical research of placentas were conducted. All obtained during the research data are processed by computer licensed programs Statistica. Statistical significance of differences was determined by Student's t-criterion.

Discussion. It is revealed, that the administration of lead acetate and citrate during pregnancy caused pathological changes in all areas of the placenta, which is reflected on the state of the blood-placental barrier and is the structural bases of placental insufficiency development. Intoxication of maternal organism with lead acetate led to the occurrence of expressive discirculatory, dystrophic and degenerative changes of histostructure of all placenta zones. The greatest changes were observed in the labyrinth zone, whose thickness is due to swelling and expansion of maternal lacunae exceeded parameters of the control group by 28.3% and was characterized by a significant accumulation of fibrin deposits around the trophoblast villous, a violation of the structure of cyto- and syncytiotrophoblast labyrinth beams, dystrophic and necrotic changes of cytotrophoblast. Morphological changes in the placenta of rats, treated with lead citrate, characterized prevalence of dystrophic and ischemic disorders in the structures of the labyrinth and spongiotrophoblast zone, that caused a significant reduction of fetus-placental coefficient by 1.4 times, weight and sizes of placenta – by 7.3-27.1%, expressed violation of histostructure and thickness of all its zones.

Keywords: xenobiotic, lead acetate, lead citrate, pathomorphological changes, the histostructure of the placenta.

Рецензент – проф. Шепітько В. І.

Стаття надійшла 16. 09. 2014 р.