

ВПЛИВ БЛОКАТОРА СИНТЕЗУ ОКСИДУ АЗОТУ НА ГІСТОЛОГІЧНУ БУДОВУ МАТКИ, ПЛАЦЕНТИ ТА ЛЕГЕНЬ ПОТОМСТВА ПРИ ГЕСТАЦІЙНОМУ АНТИФОСФОЛІПІДНОМУ СИНДРОМІ

ВПЛИВ БЛОКАТОРА СИНТЕЗУ ОКСИДУ АЗОТУ НА ГІСТОЛОГІЧНУ БУДОВУ МАТКИ, ПЛАЦЕНТИ ТА ЛЕГЕНЬ ПОТОМСТВА ПРИ ГЕСТАЦІЙНОМУ АНТИФОСФОЛІПІДНОМУ СИНДРОМІ – Метою дослідження є встановлення впливу блокатора індукцибельної NO-синтази аміногуанідину (АГ) на гістологічну будову плаценти і матки вагітних мишей лінії Balb/c при антифосфоліпідному синдромі (АФС) та легень їх плодів і новонароджених. Встановлено, що при АФС на 18 добу вагітності відмічається розширення судин плаценти, що супроводжується формуванням тромбів, периваскулярними набряками, у плацентарному ложі під живим плодом в спонгіозному шарі виявляються крововиливи та підвищена макрофагальна активність. При застосуванні АГ (10 діб до і 18 діб під час вагітності) патологічні зміни прогресують, що проявляється нерівномірним кровонаповненням судин та вогнищевими некрозами у товщі трофоспонгіуму, тромбуванням материнських та плодових балочок, діapedезними крововиливами у спонгіозному шарі. У плодів самок з АФС на 18 добу гестації відмічено порушення розвитку паренхіми легень та їх кровопостачання; у новонароджених мишей у легенях спостерігаються ознаки емфіземи та дистелектазів. На тлі введення АГ у плодів самок з АФС (на 18 добу гестації) та у новонароджених мишей спостерігається поглиблення ознак ураження легень: некроз альвеолярного епітелію, дистелектази легеневої паренхіми, порушення мікроциркуляції, діapedезні крововиливи.

ВЛИЯНИЕ БЛОКАТОРА СИНТЕЗА ОКСИДА АЗОТА НА ГИСТОЛОГИЧЕСКУЮ СТРУКТУРУ МАТКИ, ПЛАЦЕНТЫ И ЛЕГКИХ ПОТОМСТВА ПРИ ГЕСТАЦИОННОМ АНТИФОСФОЛИПИДНОМ СИНДРОМЕ – Целью исследования есть установление влияния блокатора индукцибельной NO-синтазы амингуанидина (АГ) на гистологическое строение плаценты и матки беременных мышей линии Balb/c при антифосфоллипидном синдроме (АФС) и легких их плодов и новорожденных. Установлено, что при АФС на 18 сутки беременности отмечается расширение сосудов плаценты, сопровождающееся формированием тромбов, периваскулярными отеками, в плацентарном ложе под живым плодом в спонгиозном слое обнаруживаются кровоизлияния и повышенная макрофагальная активность. При применении АГ (10 дней до и 18 дней во время беременности) патологические изменения прогрессируют, что проявляется неравномерным кровенаполнением сосудов и очаговыми некрозами в толще трофоспонгиума, тромбированием материнских и плодовых балочек, диapedезными кровоизлияниями в спонгиозном слое. У плодов самок с АФС на 18 сутки гестации отмечено нарушение развития паренхимы легких и их кровоснабжения; у новорожденных мышей в легких наблюдаются признаки эмфиземы и дистелектазов. На фоне введения АГ у плодов самок с АФС (на 18 сутки гестации) и у новорожденных мышей наблюдается углубление признаков поражения легких: некроз альвеолярного эпителиа, дистелектазы легочной паренхимы, нарушения микроциркуляции, диapedезные кровоизлияния.

INFLUENCE OF NITRIC OXIDE SYNTHESIS BLOCKER ON HISTOLOGICAL STRUCTURE OF THE UTERUS, PLACENTA, LUNGS OF FETUSES AND NEWBORNS IN GESTATIONAL ANTIPHOSPHOLIPID SYNDROME – The aim – to establish effect of inducible NO-synthase blocker aminoguanidine (AG) on histological structure of the placenta and uterus of pregnant Balb/c mice with antiphospholipid syndrome (APS) and the lungs of their fetuses and newborns. APS (18 days of pregnancy) accompanied by a dilatation of placental vessels, with the formation of thrombi, perivascular edema in the placental bed under the living fetus, hemorrhages and increased macrophagal activity in

the spongy layer. AG (10 days before and 18 days during pregnancy) causes progression of the pathological changes: focal necrosis of trofospongium, thromby in maternal and fetal tissue, diapedesis in the spongy layer. In fetuses (18th day of gestation) of female with APS violations of lung parenchyma and its blood supply were observed; in newborn mice – lung emphysema and dystelektazes. AG caused deepening the signs of lung injury of fetuses and newborn mice: necrosis of alveolar epithelium, dystelektazes of lung parenchyma, microcirculatory disorders, hemorrhages.

Ключові слова: гестаційний антифосфоліпідний синдром, гістологічна структура, плацента, матка, легень, плід, новонароджений, аміногуанідин.

Ключевые слова: гестационный антифосфоллипидный синдром, гистологическое строение, плацента, матка, легкие, плод, новорожденный, амингуанидин.

Key words: gestational antiphospholipid syndrome, histological structure, placenta, uterus, lungs, fetus, newborn, aminoguanidine.

ВСТУП Вагітність, що перебігає на фоні антифосфоліпідного синдрому (АФС), нерідко супроводжується розвитком плацентарної недостатності й хронічної гіпоксії плода, звичними викиднями, передчасними пологами і виникненням респіраторного дистрес-синдрому новонародженого [1, 2]. Існують повідомлення про участь у патогенезі ускладнень АФС оксиду азоту (NO) – вазоактивної сполуки, яка виробляється в організмі з амінокислоти L-аргініну під впливом ферменту NO-синтази й утворення та біодоступність в ендотелії якої порушується при акушерському АФС [3]. Раніше ми встановили, що попередник синтезу NO L-аргінін при експериментальному гестаційному АФС сприяє покращанню стану гемодинаміки у плаценті, зменшує дистрофічно-некротичні прояви й ознаки запальної реакції у плаценті та матці, нормалізує матково-плацентарний і плідно-плацентарний кровообіги [4].

Метою дослідження було встановити вплив блокатора синтезу оксиду азоту на гістологічну будову плаценти і матки вагітних тварин при антифосфоліпідному синдромі та легень їх плодів та новонароджених.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ АФС моделювали у статевозрілих мишей-самок лінії Balb/c з використанням кардіоліпіну (Sigma, США), який вводили внутрішньом'язово чотири рази (30 мкг на 1 ін'єкцію, проміжки між ін'єкціями становили 14 діб) [5]. Для підвищення ефективності імунної відповіді застосовували ад'ювант Фрейнда. Модель АФС формується через 2 тижні після останньої ін'єкції. Тварин з АФС ділили на 2 групи, в одній з яких використовували блокатор індукцибельної NO-синтази “Аміногуанідин” (ООО “Хімлабораторреактив”, Київ, 10 мг/кг маси); вводили 10 діб перед вагітністю і впродовж 17 діб вагітності. Спарювання самок із самцями проводили у 3 групах тварин (контроль, АФС, АФС+аміногуанідин).

Гістологічні дослідження плаценти і матки у всіх групах тварин проводили на 18 день вагітності. Будову легень вивчали у плодів на 18 добу гестації та у новонароджених тварин. Для цього шматочки тканини фіксували у 10 % нейтральному розчині формаліну і фіксаторі Ліллі з наступною заливкою у парафін. Отримані на санному мікротомі зрізи фарбували гематоксилином та еозином. Характер і глибину морфологічних змін документували за допомогою мікроскопа "ЛОМО Биолам И" і системи виводу зображень гістологічних препаратів. Роботу виконували відповідно до правил Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) та Загальних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (2003).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ При гістологічному дослідженні маткового рогу тварин контрольної групи встановлено, що плацентарні ворсини бокових поверхонь та верхівки покриті багатоядерним хоріональним епітелієм – синцитіотрофобластом. Основа ворсин та міжворсинчасті простори

ри вистелені хоріональним епітелієм із клітин циліндричної форми – цитотрофобласта. У ворсинках плаценти візуалізуються петлі чисельних капілярів (рис. 1). Міометрій представлений шарами дещо гіпертрофованих гладких м'язових волокон, насичений густою сіткою судин (рис. 2). В окремих полях зору виявляються дрібні прошарки сполучної тканини.

У вагітних тварин з АФС у спонгіозному шарі плаценти виявлялись різні за розміром крововиливи та підвищена макрофагальна активність (рис. 3). Структурні особливості матки у тварин цієї групи характеризувались значним розширенням та повнокров'ям судин, що супроводжувалось формуванням тромбів (рис. 4), периваскулярними набряками, незначними периваскулярними крововиливами та вогнищевим лейкоцитозом. Мала місце вогнищева проліферація ендотеліальних клітин та слабкі дистрофічні зміни стінки, які проявлялись у вигляді мукоїдного набряку.

При гістологічному дослідженні структури легеневої тканини плодів мишей лінії Balb/c контрольної групи на 18 день гестації (рис. 5) виявлено недостатнє диференціювання термінальних відділів респіратор-

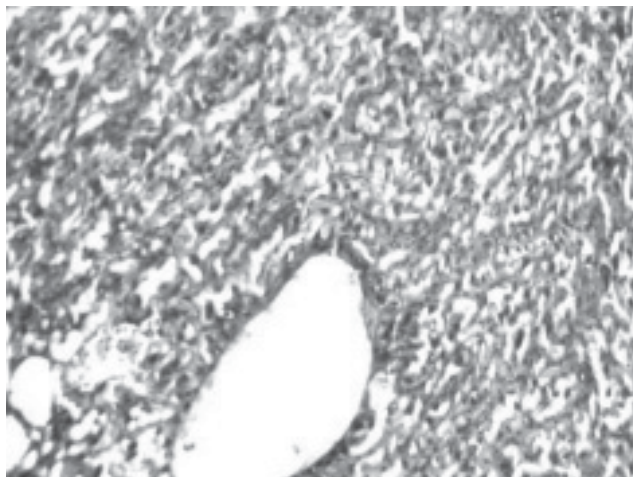


Рис. 1. Плацента тварини контрольної групи на 18 добу вагітності. Гематоксилін та еозин. $\times 100$.

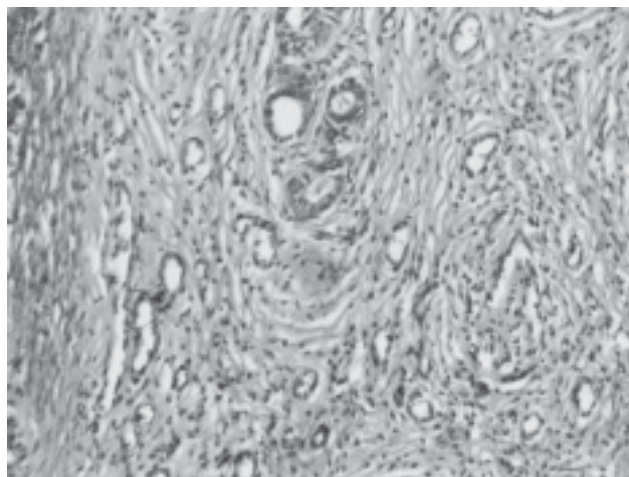


Рис. 2. Міометрій тварини контрольної групи на 18 добу вагітності. Гематоксилін та еозин. $\times 100$.

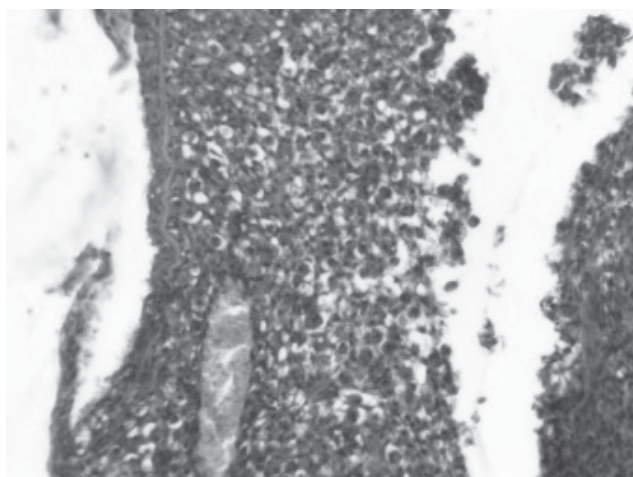


Рис. 3. Плацента тварини на 18 добу вагітності на фоні АФС. Гематоксилін та еозин. $\times 100$.

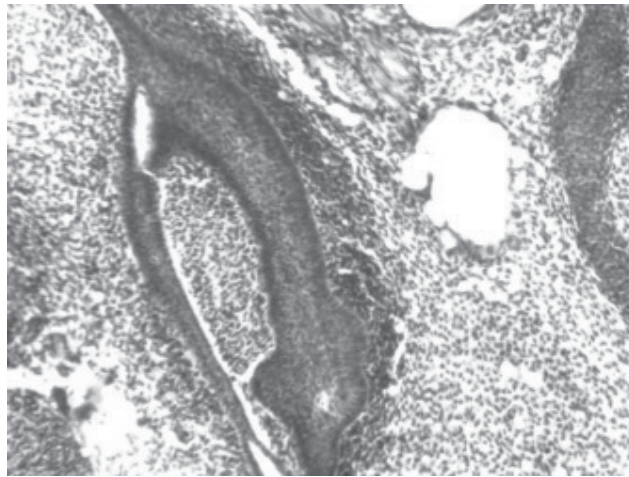


Рис. 4. Міометрій тварини на 18 добу вагітності на фоні АФС. Гематоксилін та еозин. $\times 100$.

них шляхів, які переважно сформовані високим кубічним або призматичним епітелієм.

Альвеоли та альвеолярні ходи мало візуалізуються. Респіраторні простори невеликих розмірів, розділені широкими тканинними перегородками і містять незначну кількість капілярів. Альвеолярні мішечки – деформовані, щілиноподібні. Міжальвеолярні перегородки потовщені, містять поодинокі еластичні волокна.

У плодів на 18 добу гестації на фоні змодельованого АФС (рис. 7) альвеолярні ходи залишались недиференційованими і завершувались несформованими альвеолами. Респіраторні простори мали мізерні розміри або не візуалізувались. Міжальвеолярні перегородки містили розширені повнокровні капіляри та еластичні волокна. Альвеолярні мішечки залишались деформованими, щілиноподібними. Часточкові бронхи і бронхіоли перебували у спазмованому стані, в їх просвітах візуалізувались еозинофільні маси, злущені епітеліальні клітини, згущена внутрішньолегенева рідина. Спостерігався виражений інтерстиціальний набряк, який поєднувався із діapedезом еритроцитів (рис. 7).

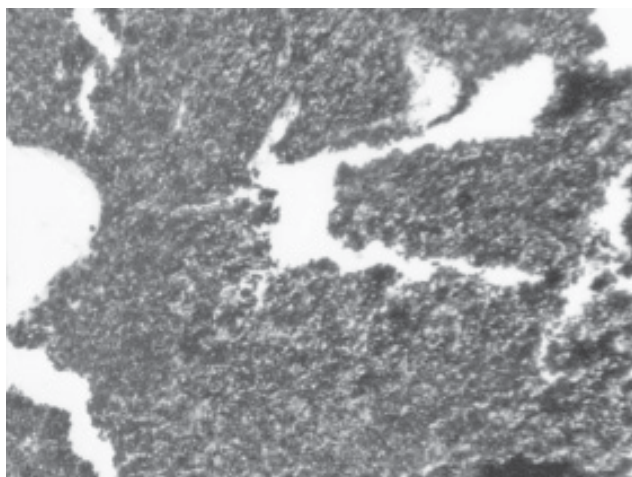


Рис. 5. Легенева тканина плода на 18 добу гестації у контролі. Гематоксилін та еозин. $\times 100$.

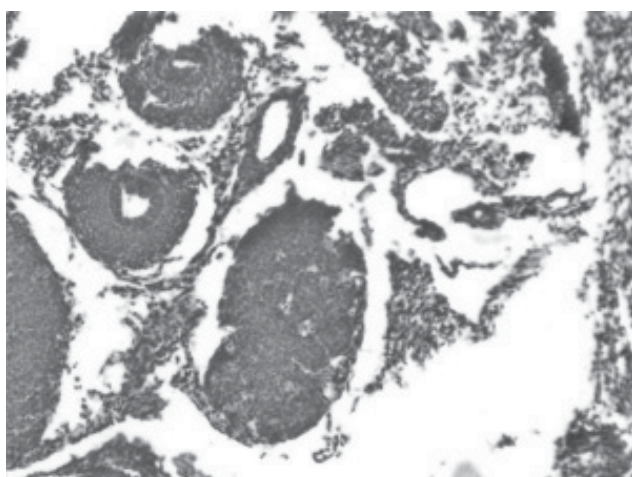


Рис. 7. Структура легеневої тканини плода на 18 добу гестації на фоні АФС. Гематоксилін та еозин. $\times 100$.

У новонароджених мишей контрольної групи альвеоли та альвеолярні ходи були добре сформованими. Респіраторні простори звичайних розмірів, розділені тканинними перегородками і містять звичайну кількість дещо розширених просвітів капілярів. Міжальвеолярні перегородки дещо потовщені, містять поодинокі еластичні волокна. Часточкові бронхи і бронхіоли добре візуалізуються, в їх просвітах виявляються еозинофільні маси.

У новонароджених мишей від самок з АФС (рис. 8) респіраторні простори альвеол та альвеолярних ходів різко збільшувались через стоншення і розриви міжальвеолярних перетинок, формуючи вогнища емфізематозного розширення та вогнища дистелектазів. Непошкоджені міжальвеолярні перетинки були насичені клітинними інфільтратами, містили незначну кількість капілярів та поодинокі еластичні волокна.

При введенні аміногуанідину вагітним тваринам з АФС на 18 добу вагітності в децидуальній оболонці спостерігалась поява великої кількості фібробластів. У товщі трофоспонгіуму відмічались вогнищеві некрози, представлені аморфною речовиною та клітинним детритом

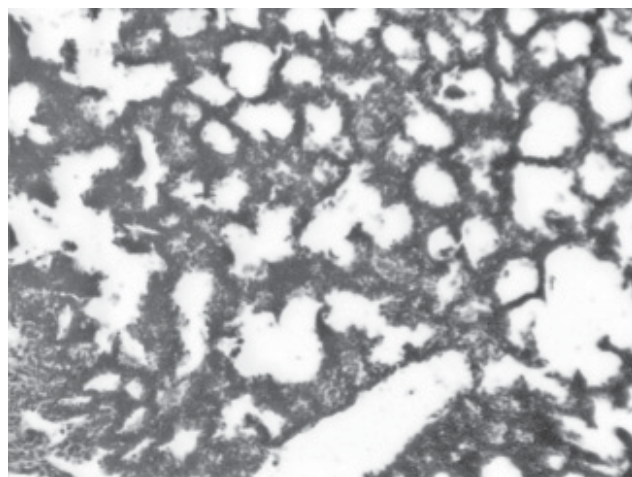


Рис. 6. Легенева тканина новонародженої тварини контрольної групи. Гематоксилін та еозин. $\times 100$.

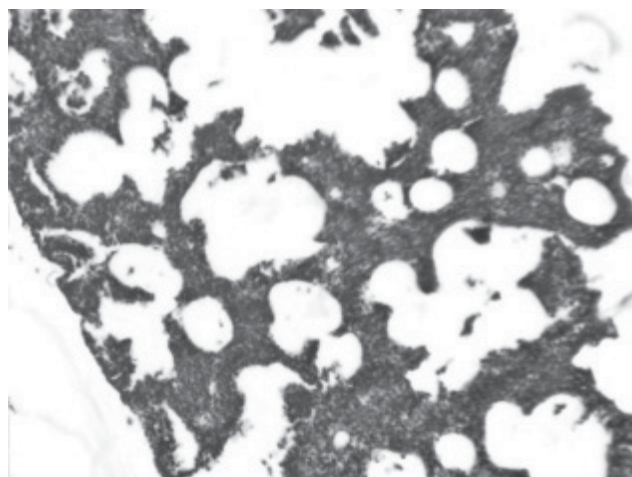


Рис. 8. Легенева тканина новонародженої тварини на фоні АФС. Гематоксилін та еозин. $\times 100$.

(рис. 9). У плаценті збільшувались розміри спонгіозного шару, з появою діapedезних крововиливів (рис. 10).

У тварин на 18 добу гестації на фоні експериментального АФС та корекції аміногуанідином виявлено значні деструктивні зміни легеневої тканини (рис. 11). Респіраторні простори не візуалізувались. Міжальвеолярні перегородки залишались тонкими, містили розширені повнокровні капіляри та еластичні волокна. Альвеолярні мішечки були деформованими, щілиноподібними. Строма легеневої тканини була представлена розширеними і повнокровними капілярами, із вираженим пошкоджен-

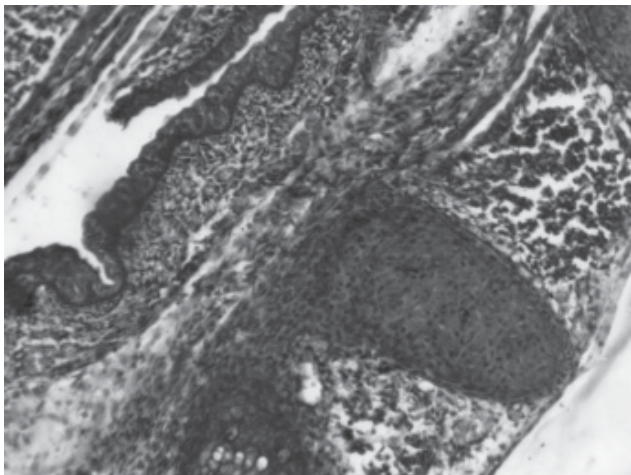


Рис. 9. Вогнищеві некрози трофоспонгіуму на 18 добу вагітності при АФС та корекції аміногуанідином. Гематоксилін та еозин. $\times 100$.

ням ендотеліальної вистілки та дифузним еритродіapedезом (рис. 11).

У легеневої тканині новонароджених мишей на фоні експериментального АФС у їх матерів та корекції аміногуанідином (рис. 12) респіраторні простори різко збільшувались через стоншення і розриви міжальвеолярних перетинок, формуючи вогнища емфізематозного розширення та дистелектазів. Міжальвеолярні перетинки були інфільтровані незначною кількістю клітинних інфільтратів. Спостерігалась підвищена проникність судин, що супроводжувалось множинним периваскулярним еритродіapedезом як строми, так і респіраторного відділу.

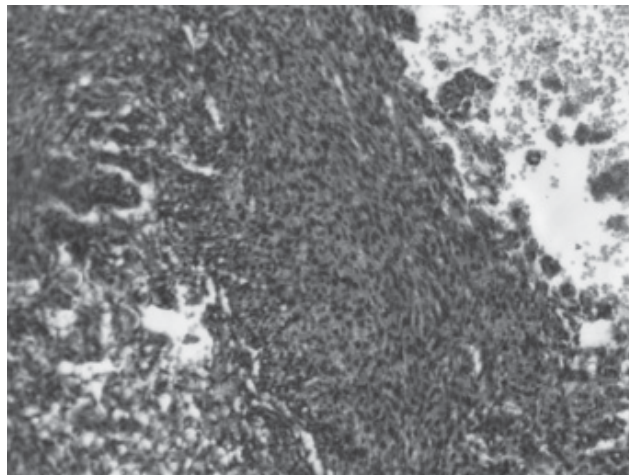


Рис. 10. Діapedезні крововиливи в товщі спонгіозного шару на 18 добу вагітності на фоні АФС та корекції аміногуанідином. Гематоксилін та еозин. $\times 100$.

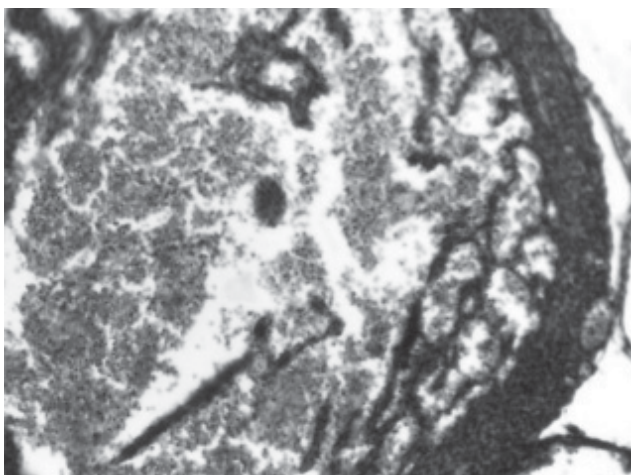


Рис. 11. Структура легеневої тканини плода на 18 добу гестації на фоні АФС та корекції аміногуанідином. Гематоксилін та еозин. $\times 100$. Виразений еритродіapedез.

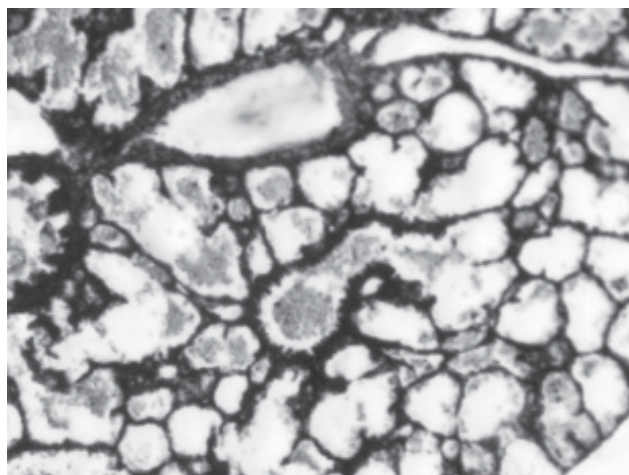


Рис. 12. Легенева тканина новонародженої тварини при АФС у матері й корекції аміногуанідином. Гематоксилін та еозин. $\times 100$.

ВИСНОВКИ 1. При гестаційному антифосфоліпідному синдромі у мишей лінії Valb/c на 18 добу вагітності відмічається значне розширення та повнокров'я судин плаценти, що супроводжується формуванням тромбів, периваскулярними набряками, у плацентарному ложі під живим плодом в спонгіозному шарі виявляються крововиливи та підвищена макрофагальна активність.

2. При застосуванні аміногуанідину (10 діб до і 18 діб під час вагітності) у мишей з гестаційним антифосфоліпідним синдромом на 18 добу вагітності порушення морфологічного стану плаценти прогресують (поява вогнищевих некрозів у товщі трофоспонгіуму, тромбування материнських та плодових балочок, діapedезні крововиливи спонгіозного шару).

3. У плодів від самок з антифосфоліпідним синдромом на 18 добу гестації спостерігаються порушення розвитку паренхіми легень та гострі порушення кровопостачання; у новонароджених мишей у легенях спостерігаються ознаки емфіземи та дистелектазів.

4. При застосуванні аміногуанідину в плодів мишей з антифосфоліпідним синдромом на 18 добу гестації та у новонароджених мишей спостерігається прогресування ураження легень із деструктивними змінами їх тканини: некрозом альвеолярного епітелію, дистелектазами легеневої паренхіми, порушеннями мікроциркуляції, діapedезними крововиливами.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ижедерова И. Р. Особенности развития гипоксических повреждений внутриутробного плода и новорожденного при антифосфолипидном синдроме / И. Р. Ижедерова, Л. Н. Иванов, Т. Н. Охотина // Медицинский альманах. – 2010. – № 4. – С. 105–108.
2. Бандур Н. Н. Развитие респираторного дистресс-синдрома у новорожденных в зависимости от количества антифосфолипидных антител / Н. Н. Бандур // Врач-аспирант. – 2006. – № 6. – С. 542–546.
3. Effects of oral L-arginine on the pulsatility indices of umbilical artery and middle cerebral artery in preterm labor / K. Rytlewski, R. Olszanecki, R. Lauterbach, A. Grzyb [et al.] // Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. – 2008. Vol. 138(1). – P. 23–28.
4. Морфологічні зміни у плаценті та матці при експериментальному антифосфоліпідному синдромі та призначенні тівортіну / К. А. Посохова, С. Р. Сампара, О. З. Яремчук, Т. В. Дацко // Вісник морфології. – 2014. – № 1. – С. 172–176.
5. Прокопюк В. Ю. Экспериментальная оценка эффективности прегравидарной подготовки и лечения антифосфолипидного синдрома / В. Ю. Прокопюк // Клін. та експерим. патологія. – 2011. – Т. X, № 2(36), ч. 1. – С. 79–82.

Отримано 26.11.14