

ФАРМАКОЛОГИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ

ВЛИЯНИЕ ОКСИДА АЗОТА И АЛЬФА-ТОКОФЕРОЛА НА СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ПЛАЦЕНТЕ ПРИ НАРУШЕНИИ МАТОЧНО-ПЛАЦЕНТАРНОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ У БЕЛЫХ КРЫС

А. С. Иванова¹, Л. П. Перетятко², В. И. Демидов¹, С. Б. Назаров^{1, 2}

Цель работы — изучение влияния оксида азота и альфа-токоферола на морфологические изменения в плаценте белых крыс при беременности, осложненной нарушениями маточного и плацентарного кровообращения. Нарушение маточно-плацентарного кровообращения осуществляли по методике [2]. При нарушении маточно-плацентарного кровоснабжения у белых крыс использование метилового эфира L-аргинина компенсирует нарушения со стороны фетоплацентарного кровотока. Увеличение оксида азота и торможение свободнорадикальных процессов в плаценте экспериментальных животных в условиях искусственно созданной патологии беременности относятся не к саногенетическим, а к патогенетическим факторам.

Ключевые слова: фетоплацентарная недостаточность; оксид азота; альфа-токоферол; плацента.

ВВЕДЕНИЕ

Плацента продуцирует большое количество биологически активных веществ, регулирующих гемодинамику в фетоплацентарной области, дифференцировку и развитие трофобласта, процессы апоптоза в клетках, а также модулирующих секрецию гормонов [9]. Одним из таких соединений является оксид азота [16]. Активность NO-зависимых процессов является важным патогенетическим и саногенетическим фактором при развитии фетоплацентарной недостаточности [3]. Вещества, являющиеся донаторами или предшественниками оксида азота, по данным некоторых исследований [9], оказывают положительное влияние на течение беременности и развитие плода. Позитивное влияние донаторов оксида азота на систему “мать – плацента – плод” явилось поводом для включения этих веществ в терапию плацентарной недостаточности [1]. Однако полученные результаты носят противоречивый характер и требуют дальнейшего изучения роли предшественников оксида азота в формировании компенсаторных процессов в плаценте при нарушениях маточного и плацентарного кровообращения.

Известно, что фетоплацентарная недостаточность сопровождается изменением баланса свободных радикалов и антиоксидантов. По данным литературы [11], своевременная коррекция дисбаланса оказывает положительное влияние на течение беременности, развитие плода и новорожденного.

Цель работы — изучение влияния оксида азота и альфа-токоферола на морфологические изменения в плаценте белых крыс при беременности, осложненной нарушением маточно-плацентарного кровообращения.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проводили на 60 плацентах белых беспородных крыс-самок. Выбор крыс как объекта исследований обусловлен тем, что, подобно человеку, животные имеют гемохориальный тип плаценты, что имеет определенное значение для интерпретации полученных данных и их экстраполяции на человека. Первый день беременности регистрировали по появлению сперматозоидов во влагалищных мазках. Фетоплацентарную недостаточность моделировали нарушением маточно-плацентарного кровообращения [2] по методике [2].

Беременные крысы были разделены на 6 групп по 10 особей в каждой: 1 — крысы с физиологическим течением беременности (контроль); 2 — животные с экспериментальным нарушением маточно-плацентарного кровообращения (НМПК); 3 — ложно оперированные беременные крысы (группа сравнения). В 4-ю группу вошли животные с НМПК, дополнительно получавшие с 1-го дня беременности вместо питьевой воды донатор окиси азота 0,2 % раствор нитрита натрия [15]. Крысы с НМПК и введением неселективного ингибитора синтеза окиси азота метилового эфира L-аргинина (L-NAME) (Sigma) внутримышечно в дозе 10 мг/кг [12] с 1 дня беременности составили 5-ю группу. Последнюю, 6-ю группу сформировали из животных с НМПК и введением дополнительно аль-

¹ ГБОУ ВПО “Ивановская государственная медицинская академия” Минздрава России, 153012, Иваново, Шереметевский пр., 8.

² ФГБУ “Ивановский НИИ материнства и детства им. В. Н. Городкова” Минздрава России, 153045, Иваново, ул. Победы, д. 8.

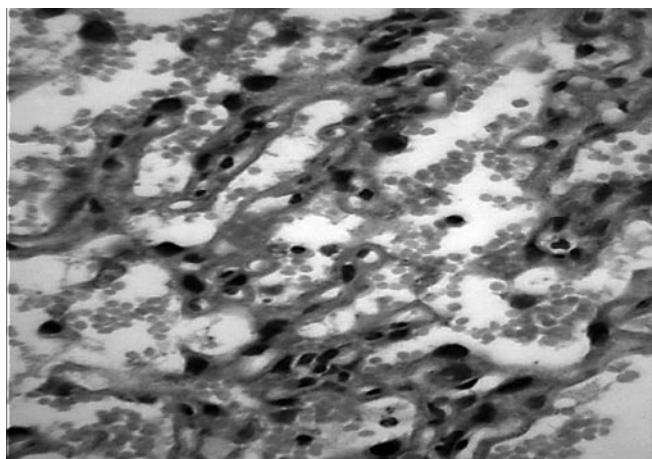


Рис. 1. Лабиринтный отдел плаценты при нитритной интоксикации и НМПК. Зона анемизации со снижением кровенаполнения материнских лакун и плодовых капилляров. Окраска гематоксилином и эозином. СМ × 480.

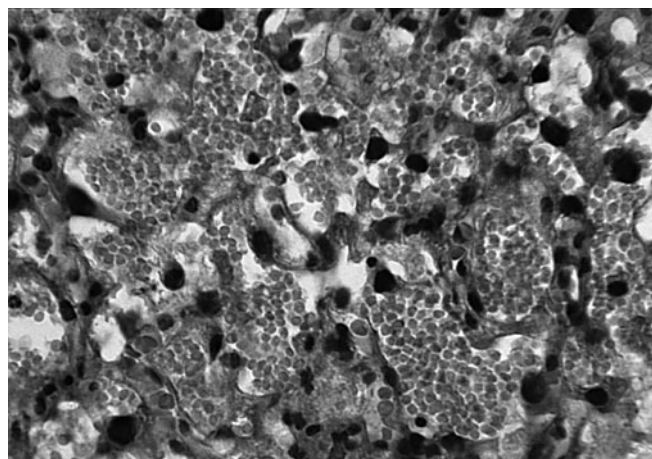


Рис. 2. Лабиринтный отдел плаценты при введении L-NAME и НМПК. Полнокровные материнских лакун в центральной зоне. Окраска гематоксилином и эозином. СМ × 480.

фа-токоферола внутримышечно в дозе 150 мг/кг 2 раза в неделю с 1 дня беременности (50 мг/кг в сутки) [13].

Операция по нарушению маточно-плацентарного кровообращения проводилась на 16-й день беременности под нембуталовым наркозом (40 мг/кг) путем перевязки части преплацентарного сосудистого пучка. Обозначенный выше период беременности выбран специально, поскольку к данному сроку завершается плацентация, и кровоснабжение плода полностью зависит от плацентарного кровотока.

Извлечение плацент для исследования во всех вышеперечисленных группах проводили у наркотизированных животных на 20-й день беременности. Для гистологического исследования иссекали по всей толщине пластину из центральной части органа. Материал фиксировали в нейтральном забуференном формалине, обезвоживали и заливали в парафин. Готовые срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Выведение животных из опыта осуществляли путем дислокации шейных позвонков.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Морфологическое сопоставление структурных изменений в плацентах 1-й и 3-й групп экспериментальных животных отличий не выявило.

Патоморфологическое исследование плацент крыс после НМПК установило ряд адаптационных перестроек как со стороны внеплацентарных оболочек (в виде глубокой нищадии оболочек в лабиринтный отдел), так и плодового кровотока — ангиогенез в стро-ме ветвистого хориона. Во всех отделах лабиринтной части плаценты резко снижено кровенаполнение как материнских, так и сосудов плода, особенно в субхориальных и центральных отделах. Подобные изменения в системе кровообращения относятся к явным проявлениям ишемии. Обнаружены некротические изменения гликогеновых клеток, которые приводят к де-

фициту энергетического субстрата, обеспечивающего активный транс- и параплацентарный транспорт. Выявлены некротические изменения трофобластических клеток, а именно трофобласта первого слоя. Согласно мнению [5], ультраструктурная патология щеточной каймы трофобластического эпителия не только сопровождается нарушением процессов транспорта через фетоплацентарный барьер, но и является одной из причин снижения функции противосвертывающей системы в плаценте и гиперкоагуляции крови в материнском кровотоке. Исследование базального отдела плаценты позволило обнаружить ишемию материнских сосудов, проявляющуюся анемизацией материнских лакун и замедлением кровотока. Прогрессирующая ишемия приводит к повреждению ультраструктур в клетках, завершающемуся выраженным некрозом. Согласно данным литературы, при экспериментальном НМПК увеличивается индекс экспрессии фактора Виллебранда как в лабиринтном, так и в базальном отделах плаценты, который является маркером эндотелиальной дисфункции [6].

В плацентах крыс с НМПК, получавших во время беременности нитрит натрия, при патоморфологическом исследовании выявлен очаговый отек со склерозом внеплацентарных оболочек, что является исходом альтерации клеток и структур плодовых оболочек при хронической гипоксии. Толщина плаценты в лабиринтном отделе уменьшена. Субхориально визуализируются дилатированные и умеренно полнокровные плодовые капилляры. Локальные зоны гиперемии чередуются с зонами анемизации за счёт снижения кровенаполнения материнских лакун с последующим некрозом первого слоя трофобласта (рис. 1). Базальный отдел плаценты уменьшен по толщине. Материнские сосуды базального отдела преимущественно пустые и расширенные, либо содержат гемолизированные эритроциты. Выражены некротические изменения со стороны клеток, формирующих базальный отдел. На ос-

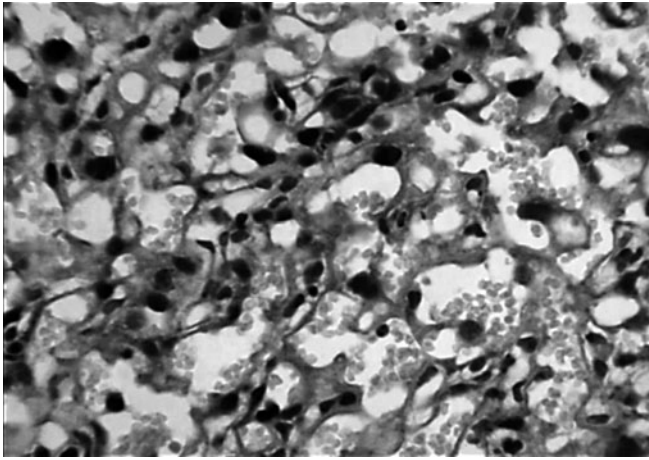


Рис. 3. Лабиринтный отдел плаценты при введении альфа-токоферола и НМПК. Расширенные и практически пустые материнские лакуны и плодовые капилляры. Окраска гематоксилином и эозином. СМ \times 480.

нове полученного морфологического субстрата следует сделать вывод о недостаточности материнского и плодового кровоснабжения в данной группе плацент, что можно объяснить прямым цитотоксическим действием избытка оксида азота на клетки и ткани плаценты [3].

Структурные изменения в плацентах крыс с НМПК, получавших во время беременности L-NAME, отличаются от предыдущих групп. По сравнению с изолированным НМПК, в лабиринтном отделе таких плацент материнские лакуны с хорошим кровенаполнением, особенно в центральном и суббазальном отделах (рис. 2). Обнаружены незначительные изменения со стороны ядер клеток в виде их гипертрофии и гиперхромии. Кроме того, выявлена так называемая “ложная” пролиферация трофобласта первого слоя, вызванная спазмом капилляров плода. При созданной экспериментально сочетанной патологии структурных повреждений неожиданно меньше, чем просто при НМПК. Выявленный феномен может быть связан с увеличением содержания NO_x и нитротирозина в тканях плаценты [4]. Повышение концентрации NO_x вызвано, вероятно, активацией индуцируемой NO-синтазы при длительном введении антагониста оксида азота [16]. Увеличение нитротирозина свидетельствует о синтезе большого количества пероксинитрита, способного вызывать дилатацию сосудов [18]. Расширение материнских сосудов также можно связать с избытком накопленных в ткани плаценты свободнорадикальных соединений [4], относящихся к стимуляторам индуцированной дилатации сосудов [7].

Исследование плацент крыс при НМПК, получавших во время беременности альфа-токоферол, показало значительное ухудшение кровоснабжения лабиринтного отдела. Большая часть материнских лакун оптически пуста, лишь в суббазальных отделах сосудов, содержащие материнскую кровь, полнокровны

(рис. 3). Дилатация и полнокровие сосудов чередуется с расширенными пустыми материнскими лакунами. Выявляется неравномерность полнокровия. Первый слой трофобласта — с очаговыми некробиотическими и некротическими изменениями цитоплазмы клеток. Кровоснабжение базального отдела плаценты также нарушено. На фоне анемизации тканей базального отдела развиваются некротические изменения со стороны ядер и цитоплазмы клеток. Одной из причин нарушенного фетоплацентарного кровообращения у данной группы животных может быть значительное снижение продукции оксида азота за счет противовоспалительного действия альфа-токоферола [14]. Другой причиной, кроме указанной, является снижение активности индуцируемой NO-синтазы, синтезируемой плацентарными макрофагами [11]. Согласно сведениям, представленным в литературе, во время беременности в плаценте продуцируются перекись водорода, органические пероксиды и пероксинитрит, влияющие на релаксацию мышечных клеток и индуцирующие дилатацию сосудов [7]. Использование альфа-токоферола препятствует образованию перечисленных продуктов и, следовательно, предупреждает возникновение сосудорасширяющего эффекта.

ВЫВОДЫ

1. В эксперименте при нарушениях маточно-плацентарного кровоснабжения у белых крыс ингибитор синтеза оксида азота метиловый эфир L-аргинина компенсирует нарушения со стороны фетоплацентарного кровотока.
2. Увеличение содержания оксида азота и торможение свободнорадикальных процессов в плаценте экспериментальных животных в условиях искусственно созданной патологии беременности относятся не к самогенетическим, а к патогенетическим факторам.

ЛИТЕРАТУРА

1. И. О. Буштырева, М. П. Курочка, Ю. Б. Хоменко и др., *Перинатальные инфекции: лечить или нет?*, Ростов-на-Дону (2006), сс. 53 – 55.
2. М. М. Варганова, *Дис. докт. мед. наук*, Ленинград (1984).
3. Н. В. Жирова, *Автореф. дис. канд. мед. наук*, Барнаул (2004).
4. А. С. Иванова, И. Г. Попова, С. Б. Назаров, *Вопросы биолог., медиц. и фармац. химии*, № 2, 32 – 35 (2011).
5. Н. К. Корнилова, *Дис. канд. мед. наук*, Москва (2003).
6. Р. А. Кузнецов, *Автореф. дис. канд. мед. наук*, Москва (2008).
7. З. И. Микашинович, Е. В. Олемпиева, *Бюл. сиб. мед.*, № 2, 101 – 105 (2008).
8. С. А. Сельков, О. В. Павлов, *Плацентарные макрофаги*, Тов-во научных изданий КМК, Москва (2007).
9. А. В. Шестопалов, *Дис. докт. мед. наук*, Ростов-на-Дону (2007).
10. Mdo C. Franco, T. H. Akamine, M. Aparecida de Oliveira, *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, **42**(2), 211 – 217 (2003).
11. Q. Jiang, I. Elson-Schwab, C. Courtemanche, et al, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **97**(21), 11494 – 11499 (2000).

12. H.-S. Huang, M.-Ch. Ma, J. Chen, *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.*, **295**, 388 – 396 (2008).
13. F. S. Kilic, K. Erol, *Methods Find. Ex. Clin. Pharmacol.*, **25**(1), 27 – 31 (2003).
14. S. Kim, E. H., Lee S. H. Kim, et al., *J. Pharmacol. Sci.*, **118**(2), 237 – 244 (2012).
15. M. G. Miller, C. A. Voelker, S. Glistler, et al., *Free Radic. Biol. Med.*, **21**(5), 619 – 629 (1996).
16. A. C. Roth, G. F. Herkert, J. P. Bercz, et al., *Fundam. Appl. Toxicol.*, **9**(4), 668 – 677 (1987).
17. S. M. Sladek, R. R. Magness, *Am. J. Physiol.*, **272**, 441 – 463 (1997).
18. L. M. Villa, E. Salas, M. Darley-Usmar, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**, 12383 – 12387 (1994).

Поступила 15.02.15

INFLUENCE OF NITRIC OXIDE AND ALPHA-TOCOPHEROL ON STRUCTURAL CHANGES IN PLACENTA DURING VIOLATION OF UTEROPLACENTAL CIRCULATION IN WHITE RATS

A. S. Ivanova¹, L. P. Peretyat'ko², V. I. Demidov¹, and S. B. Nazarov^{1,2}

¹ Ivanovo State Medical Academy, Ministry of Public Health of the Russian Federation, Sheremetevskii pr. 8, Ivanovo, 153012 Russia

² V. N. Gorodkov Research Institute of Maternity and Child Welfare, Ministry of Public Health of the Russian Federation, pr. Engelsa 8, Ivanovo, 153462 Russia

We have studied the effect of nitric oxide and alpha-tocopherol on morphological changes in the placenta of white rats during pregnancy complicated by disorders of the uterine and placental circulation. Violation of the uteroplacental circulation was reproduced by the method of M. M. Vartanova (1984). In white rats with violated uteroplacental blood circulation, the use of L-arginine methyl ester compensates for disturbances of the fetoplacental blood flow. It is established that an increase in nitric oxide and the inhibition of free radical processes in the placenta of experimental animals under conditions of artificially created pathology of pregnancy belong to pathogenetic rather than sanogenetic factors.

Keywords: fetoplacental insufficiency; nitric oxide; alpha-tocopherol; placenta.