

УДК 618.46:611.018:576.31:669.5:616-092.9

**ГИСТОМОРФОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ПЛАЦЕНТЫ И
ОСОБЕННОСТИ ПЛАЦЕНТОГЕНЕЗА ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ
ХЛОРИДА ЦИНКА У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ**

Белецкая Э.Н., Онул Н.М., Шаторная В.Ф., Кононова И.И., Демура Е.В.¹

*Гистоморфологическое состояние плаценты и особенности
плацентогенеза под воздействием хлорида цинка у экспериментальных
животных / Э. Н. Белецкая, Н. М. Онул, В. Ф. Шаторная, И. И. Кононова,
Е. В. Демура // Світ медицини та біології. - 2014. - № 4(46). - С. 71-74.*

*ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины»,
КУ «Днепропетровский областной перинатальный центр
со стационаром Днепропетровского областного совета»¹*

Данная работа является фрагментом научно-исследовательской работы кафедры общей гигиены ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины»: «Особливості формування репродуктивного здоров'я населення внаслідок впливу техногенно забрудненого довкілля та шкідливих професійних факторів» (№ 0111U009620).

Экологические проблемы, ставшие на сегодняшний день глобальными, затрагивают интересы каждого человека, формируя целый ряд экологозависимых заболеваний. В этой связи особое место занимает проблема микроэлементозов среди всех без исключения групп населения [4, 7, 8]. По определению экспертов ВОЗ, дефицит микронутриентов - минеральных веществ и витаминов является главным кризисом в питании населения Земли в XX веке [3].

Среди эссенциальных микроэлементов особое место занимает цинк, который участвует в различных метаболических процессах, что обусловлено его включением в состав активных центров более чем 200

ферментов [10]. Они катализируют гидролиз пептидов, белков, некоторых эфиров и альдегидов [5]. Благодаря цито- и иммунопротективным свойствам цинк является незаменимым микроэлементом в процессах синтеза и репарации ДНК, эмбриогенеза, репродукции, регенерации тканей, иммуногенеза [7]. Потребность в цинке существенно возрастает во время беременности, при физической нагрузке, стрессе [6, 8].

Среди распространенных микроэлементозов дефицит цинка является одним из ведущих. В Украине, особенно в промышленно развитых регионах, к которым относится Днепропетровская область, дефицит цинка у различных групп населения составляет 7,0-50,8% [4, 5]. При этом полностью сбалансировать макро- и микроэлементный состав рациона питания современного человека только за счет потребления натуральных пищевых продуктов почти невозможно [2], особенно в условиях техногенно загрязненных территорий. Наиболее эффективным способом улучшения обеспеченности населения микронутриентами является дополнительное обогащение ими продуктов питания. При этом одним из важнейших интегральных показателей в системе гигиенической оценки безопасности пищевых продуктов является состояние репродуктивной системы, что и обуславливает актуальность проведенных исследований.

Цель исследования – изучить влияние хлорида цинка на плацентогенез и гистоморфологические особенности плаценты в условиях лабораторного эксперимента.

Материалы и методы. Для проведения экспериментальных исследований использованы методические подходы, соответствующие «Загальним етичним принципам експериментів на тваринах» (Киев, 2001), которые согласуются с Европейской конвенцией по проведению токсикологических экспериментов с использованием животных [9].

Адаптационный период составлял 12 дней, в течение которого определяли общее состояние и поведенческие реакции самок, массу и

размеры тела, а также цикличность и длительность эстрального цикла методом влагалищных мазков. 20 самок крыс линии Wistar (питомник - «Далі-2001») с устойчивым ритмом эстрального цикла в возрасте 3-3,5 мес. с массой тела 170-200 г в стадии проэструс и эструс спаривали с интактными самцами по схеме 2:1. Первый день беременности определяли по наличию сперматозоидов в влагалищных мазках.

Самок крыс с датированным сроком беременности распределили на 2 группы (по 8-9 самок в каждой группе). 1 группа - контрольная, животные которой получали дистиллированную воду. 2 группа – опытная, животным которой с помощью внутрижелудочного зонда ежедневно с 1 по 19 день беременности вводили хлорид цинка в дозе 1,5 мг/кг. Отбор самок крыс в контрольную и опытные группы проводился в произвольном порядке. На 20-й день животных выводили из эксперимента под тиопенталовым наркозом и проводили забор плацент для выполнения морфометрических и гистологических исследований. Плаценту крыс фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина, обезвоживали с последующим изготовлением парафиновых блоков. Гистологические срезы делали толщиной 5 мкм с помощью ротационного микротомы. Покраска депарафинизованных срезов проводили гематоксилином-эозином.

Световая микроскопия проводилась с использованием микроскопа «Leika CM-E» (USA), объективами $\times 10$, $\times 20$, $\times 40$, $\times 100$, $\times 200$. Проведение количественного исследования зон плаценты выполняли с помощью программного пакета ImageJ 1,47v.

Все полученные в работе цифровые данные обрабатывали компьютерными лицензионными программами Microsoft Excel, Statistica 10. Достоверность различий определяли по t-критерию Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение. Анализ органомерических показателей развития плацент контрольной и опытной групп (табл. 1) свидетельствует, что средняя масса плацент животных,

получавших хлорид цинка, достоверно не отличается от показателей контрольной группы и составляет $0,56 \pm 0,03$ г и $0,59 \pm 0,02$ г соответственно. Аналогичная ситуация характерна и в отношении диаметра плацент, которые достоверно не отличаются у животных контрольной и опытной групп. При этом формируется зрелый фетоплацентарный комплекс, который обеспечивает развитие плодов с нормальными соматометрическими показателями [1].

Таблица 1

Морфометрические показатели состояния фетоплацентарного комплекса экспериментальных животных ($M \pm m$)

Группы	Масса плаценты, г	Диаметр плаценты, см	Масса плодов, г	Плодово-плацентарный коэффициент
Контроль	$0,59 \pm 0,02$	$1,51 \pm 0,04$	$2,38 \pm 0,08$	0,24
Хлорид цинка	$0,56 \pm 0,03$	$1,53 \pm 0,04$	$2,31 \pm 0,06$	0,24

Светооптические исследования плаценты крыс опытной группы показало, что общий план строения органа не отличался от группы контроля. Толщина гемохориальной плаценты на 20-е сутки беременности составляла $2741,2 \pm 205,3$ мкм, что несколько превышало контрольные показатели, но без достоверных отличий (рис. 1).

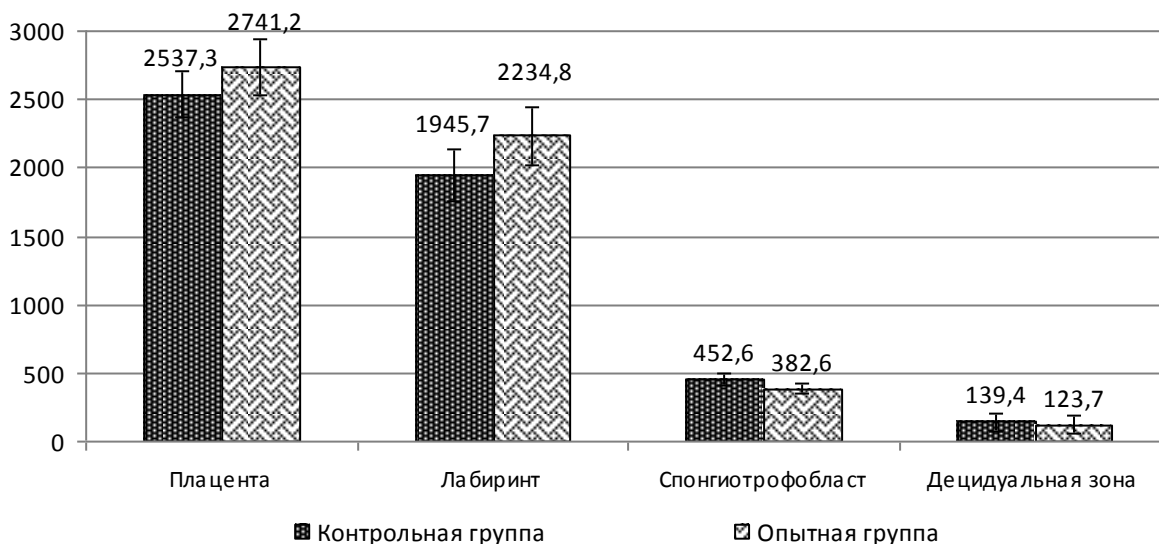


Рис. 1. Толщина плаценты и ее зон на 20-е сутки беременности у крыс контрольной и опытной групп (мкм).

Толщина лабиринтной зоны плаценты составляла $2234,8 \pm 209,6$ мкм. Эта зона, как и у животных контрольной группы, была представлена хорошо сформированными плодовыми капиллярами, в окружении трехслойного трофобласта и умеренно развитыми материнскими лакунами (рис. 2). Вытянутой формы с овальным ядром клетки цитотрофобласта равномерно покрывали фетальные сосуды, нарушений в строении симпластотрофобластных белок обнаружено не было. Среди клеток трофобласта встречались гигантские клетки лабиринта с большим плотным ядром, их удельное количество не отличалась от нормы. Также встречались островки гликогенных клеток.

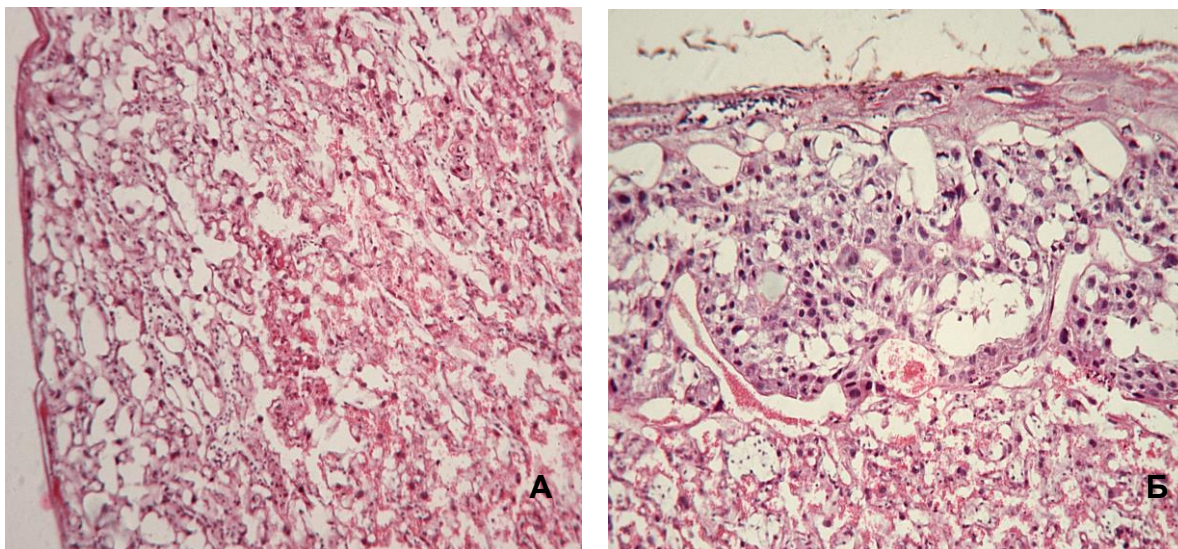


Рис. 2. Плацента крысы опытной группы, получавшей хлорид цинка на 20-е сутки беременности. Лабиринтная зона (А) и зона спонгиотрофобласта (Б). Окраска гематоксилином-эозином. $\times 200$.

Зона спонгиотрофобласта ($382,6 \pm 37,8$ мкм) была достаточно развита и по клеточному составу не отличалась от контрольной группы (рис. 2). Спонгиотрофобластические клетки образовывали нормальной структуры тяжи. Они сохраняли характерную полигональную форму с одним или двумя базофильно окрашенными ядрами. Гликогенные клетки располагались в виде островков среди тяжелой спонгиотрофобласта. Слой гигантских клеток трофобласта был образован несколькими рядами бобоподобной формы клеток с умеренной фагоцитарной активностью. Площадь краевых материнских синусоидов и периферических материнских лакун отвечала нормальным значением, их просвет был умеренно заполнен форменными элементами крови и в редких случаях гликогенными клетками. Толщина децидуальной зоны ($123,7 \pm 67,4$ мкм) и ее структура соответствовала параметрам группы контроля.

Таким образом, в результате проведенных исследований патологических изменений формы и гистоструктуры плаценты, нарушения

деятельности фетоплацентарного комплекса под воздействием хлорида цинка в дозе 1,5 мг/кг не выявлено.

Выводы

1.Макроскопические и органомерические данные свидетельствуют о физиологическом протекании плацентогенеза и формировании зрелого фетоплацентарного комплекса у экспериментальных животных под воздействием хлорида цинка в дозе 1,5 мг/кг.

2.Постоянное поступление хлорида цинка на протяжении всего периода беременности у крыс не вызывает патологических изменений как гистоструктуры плаценты в целом, так и ее отдельных зон. При этом отмечается незначительная стимуляция плацентогенеза, что обеспечивает развитие плаценты в пределах верхних границ контрольных значений.

3.Полученные данные могут стать морфологической основой выбора методов коррекции микроэлементного статуса и профилактики донозологических состояний у беременных промышленных территорий.

Перспективой дальнейших исследований является изучение комбинированного действия эссенциальных и токсических микроэлементов на структурную организацию и функционирование фетоплацентарного комплекса, изучение особенностей их взаимодействия в системе «мать-плацента плод» для разработки профилактических мероприятий по сохранению и укреплению здоровья матери и плода в условиях повышенной техногенной нагрузки.

Список литературы

1. Белецкая Э.Н. Влияние цинка на репродуктивную функцию экспериментальных животных / Э.Н.Белецкая, Н.М.Онул // Микроэлементы в медицине. – 2014. - №15 (2). – С. 22-28.

2. Взаємодія мікроелементів: біологічний, медичний і соціальний аспекти / Трахтенберг І.М., Чекман І.С., Линник В.О. [та ін.] // Вісник національної академії наук України.- 2013. - №6. – С. 11-21.
3. Глобальная стратегия ВОЗ по питанию, физической активности и здоровью: руководство для стран по мониторингу и оценке осуществления. – ВОЗ, 2009. – 47 с. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.euro.who.int/document/e81507r/pdt>.
4. Индивидуальная биокоррекция экологозависимых состояний у критических групп населения / Э.Н.Белецкая, Н.М.Онул, В.И.Главацкая, Т.А.Головкова [и др.] // Гигиена и санитария. – 2014. - №2. – С. 34-37.
5. Онул Н.М. Еколого-гігієнічні аспекти проблеми репродуктивного здоров'я населення / Онул Н.М. // Гігієнічна наука та практика: сучасні реалії: Матеріали XV з'їзду гігієністів України. – 2012. – С. 464-465.
6. Сальникова Е.В. Цинк – эссенциальный микроэлемент (обзор) / Е.В.Сальникова // Вестник ОГУ. – 2012. - №10 (146). – С.170-172.
7. Скальный А.В. Микроэлементозы человека (диагностика и лечение) / А.В. Скальный. - 2-е изд. – М.: Изд-во КМК, 2001. – 96 с.
8. Тяжелые металлы внешней среды и их влияние на репродуктивную функцию женщин / [Сердюк А.М., Белицкая Э.Н., Паранько Н.М., Шматков Г.Г.]. – Днепропетровск: АРТ-ПРЕСС, 2004. – 148 с.
9. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe, Strasbourg, 1986. – 53 p.
10. Prasad A.S. Zinc deficiency / A.S. Prasad // Br. Med. J. – 2003/ - Vol. 326. - P. 409-410.

Реферат.

ГІСТОМОРФОЛОГІЧНИЙ СТАН ПЛАЦЕНТИ І ОСОБЛИВОСТІ ПЛАЦЕНТОГЕНЕЗУ ПІД ВПЛИВОМ ХЛОРИДУ ЦИНКУ У ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН

Білецька Е.М., Онул Н.М., Шаторна В.Ф., Кононова І.І., Демура О.В.

У статті представлені результати вивчення морфофункціонального стану плаценти під впливом хлориду цинку в дозі 1,5 мг/кг при його пероральному введенні упродовж усього періоду вагітності у щурів. Встановлено, що додаткове введення цинку у вищезазначеній дозі не лише не порушує процесів формування фетоплацентарного комплексу і гістоструктури плаценти, але навіть має деяку стимулюючу дію, що забезпечує розвиток плаценти в межах верхніх рівнів контрольних значень.

Ключові слова: есенціальні мікроелементи, цинк, вплив, плацентогенез, гістоструктура.

Реферат.

ГИСТОМОРФОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ПЛАЦЕНТЫ И ОСОБЕННОСТИ ПЛАЦЕНТОГЕНЕЗА ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ХЛОРИДА ЦИНКА У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

Белецкая Э.Н., Онул Н.М., Шаторная В.Ф., Кононова И.И., Демура Е.В.

В статье представлены результаты изучения морфофункционального состояния плаценты и особенностей плацентогенеза под воздействием хлорида цинка в дозе 1,5 мг/кг при его пероральном введении на протяжении всего периода беременности у крыс. Установлено, что дополнительное введение цинка в данной дозировке не только не нарушает процессов формирования фетоплацентарного комплекса и гистоструктуры плаценты, но даже обладает некоторым стимулирующим действием, что обеспечивает развитие плаценты в пределах верхних границ контрольных значений.

Ключевые слова: эссенциальные микроэлементы, цинк, влияние, плацентогенез, гистоструктура.

Summary

**HISTOMORPHOLOGICAL STATUS OF THE PLACENTA AND
FEATURES OF PLACENTAL DEVELOPMENT UNDER THE
INFLUENCE OF ZINC CHLORIDE IN EXPERIMENTAL ANIMALS**

Beletskaya E.N., Onul N.M., Shatornaya V.F., Kononova I.I., Demura E.V.

The article contains the results of study of the morphofunctional state of placenta and features of placental development under the influence of zinc chloride in a dose 1,5 mgs/of kg by means of daily intragastric tube from 1 to 19th day of pregnancy. It is revealed, that additional introduction of these doses of zinc not only does not violate the processes of fetoplacental complex forming and histostructure of placenta, but even possesses some stimulant action, that provides development of placenta within the limits of high bounds of control values.

Key words: essential microelements, zinc, influence, placental development, histostructure.

Контактное лицо: Онул Наталья Михайловна, к.мед.н., доцент кафедры общей гигиены ГУ «ДМА МЗ Украины», т. 099-029-78-56, e-mail: sangreena@mail.ru

Summary

**HISTOMORPHOLOGICAL STATUS OF THE PLACENTA AND
FEATURES OF PLACENTAL DEVELOPMENT UNDER THE
INFLUENCE OF ZINC CHLORIDE IN EXPERIMENTAL ANIMALS**

Beletskaya E.N., Onul N.M., Shatornaya V.F., Kononova I.I., Demura E.V.

SI «Dnepropetrovsk Medical Academy of Health Ministry of Ukraine»

Introduction. 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 trace elements influence, particularly zinc, on the morphofunctional state of placenta and features of placental development is very actual nowadays and still have not completely elucidated.

Purpose of research - to study the effect of zinc chloride on placental development and histomorphological features of the placenta 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 2 groups: 1 group - control, animals of which received distilled water, 2 groups - research, animals of which during 19 days of pregnancy were injected with zinc chloride by intragastric tube in a doses of 1.5 mg/kg. At the final stage of the study, animals were withdrawn from the experiment under thiopental anesthesia and sampling of biological materials for their further studies was done. Mass-metric parameters and histological structure of placentas were measured. Light microscopy was performed using microscope «Leika CM-E». Quantitative study of placenta area was performed using the software package ImageJ 1,47 v. All obtained during the research data are processed by computer licensed programs Statistica.

Discussion. It is revealed, that the administration of zinc chloride during pregnancy caused physiological development of the placenta as evidenced by

morphological and organometric data. A continuous supply of zinc chloride during pregnancy in rats does not cause pathological changes of histostructure of placenta as a whole and its separate areas. Thus, the total placenta thickness was not significantly different from the control group values and made up $2741.2 \pm 205.3 \mu\text{m}$. At the same time thickness of the labyrinthine zone increased by 14.9%, but not reliably.

On the contrary, even there is a slight stimulating effect that is manifested in the development of the placenta at the level of the upper limits of reference values, which is reflected on the state of the blood-placental barrier and is the structural bases of placental physiological development. The degree of fetal capillaries development and structure of labyrinthine zone did not differ from the control group. Index of spongiotrophoblast thickness in the group, receiving zinc chloride did not differ from the norm and was $382.6 \pm 49.7 \mu\text{m}$. This area was represented by polygonal spongiotrophoblast cells that formed correct bands. Among them cluster of glycogen cells was revealed. A layer of trophoblast giant cells was characterized by normal development, cells were arranged in several rows and had inherent elongated, bean-like shape, rounded or oval nucleus.

The data obtained can be morphological basis for the selection of correction methods of trace element status and prevention of prenosological conditions in pregnant women of industrial territories.

Keywords: essential microelements, zinc, influence, placental development, histostructure.