

УДК: 615.361.013.85.014.43: 612.592

ВЛИЯНИЕ КРИОКОНСЕРВИРОВАННОГО ЭКСТРАКТА ПЛАЦЕНТЫ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ОБЩЕМ ОХЛАЖДЕНИИ

А.К.Черемской, О.С.Прокопюк, Г.И.Губина-Вакулик, В.В.Чижевский, О.В.Фалько

*Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины (Харьков, Украина)
cryo@online.kharkov.ua*

В результате поиска веществ, которые способствуют повышению устойчивости теплокровных организмов к холодовому стрессу, были получены данные, свидетельствующие, что криоконсервированный экстракт плаценты обладает протекторным действием, повышает выживаемость животных, подвергшихся общему охлаждению. Введение экстракта плаценты старым животным приводит к увеличению количества капилляров в разных тканях (относительно возрастной нормы), заметно увеличивает содержание РНК в саркоплазме кардиомиоцитов и скелетных миоцитов.

Ключевые слова: *криоконсервированный экстракт плаценты, общее охлаждение.*

Введение

В настоящее время актуальной задачей криобиологии является поиск способов, повышающих устойчивость гомойотермных организмов к повреждающему действию холода. Это может явиться основанием для поиска биологически активных соединений, обладающими защитными свойствами при холодовом стрессе.

Использование криоконсервированных биобъектов фетоплацентарного происхождения оказалось эффективным в коррекции различных патологических нарушений теплокровного организма.

Ранее нами было показано протекторное действие гетеротопической минитрансплантации криоконсервированной ткани раннего хориона на морфофункциональные характеристики сердечно-сосудистой системы лабораторных животных, находящихся в условиях гипертермии (Чижевский, Прокопюк, 2001). Полученный эффект был обусловлен влиянием на организм экспериментальных животных комплекса биологически активных веществ, содержащихся в тканях раннего онтогенеза. Полученные положительные результаты побудили нас к изучению соединений плацентарного происхождения в качестве препаратов, способных повышать резистентность организма к неблагоприятным влияниям окружающей среды.

Известно, что плацента содержит весь спектр гормонов, витаминов, иммунорегуляторов, ростовых факторов и других биологически активных веществ, которые обеспечивают рост и развитие организма плода (Морозова и др., 1999). Морфологические и экспериментальные данные позволяют констатировать, что при использовании ткани плаценты происходит стимуляция работы эндокринных органов, печени, улучшается трофика сердечно-сосудистой системы, повышается репаративная способность тканей. Трансплантация криоконсервированных фрагментов плаценты влияет на органы-мишени, стимулируя их функцию и повышая неспецифическую резистентность организма к неблагоприятным факторам внешней среды и стрессовым ситуациям (Грищенко, Гольцев, 2002).

В связи с этим препараты плаценты, по нашему мнению, могут позитивно влиять на стабилизацию основных показателей гомеостаза, которые нарушаются при переохлаждении.

Целью наших исследований явился поиск веществ, способных повышать устойчивость теплокровных организмов к холодовому стрессу.

Объектом нашего внимания стал криоконсервированный экстракт плаценты – препарат, разработанный в ИПКиК НАН Украины и предоставленный для исследовательской работы низкотемпературным банком биологических объектов.

Материалы и методы

В эксперименте использовались самцы белых беспородных крыс в возрасте 6 и 24 месяцев. Животные, исходя из поставленных исследовательских задач, были разделены на 4 группы:

- 1) группа интактных животных (Инт);
- 2) животные – после общего острого охлаждения (Охл);
- 3) животные, которым вводили внутривентриально криоконсервированный экстракт плаценты в дозе 0,1 мл в течение 5-ти дней (Преп);

4) животные основной группы, которым предварительно вводили экстракт плаценты, а затем подвергали острому общему охлаждению (Преп+Охл).

Общее охлаждение проводилось путём погружения животных в водяную баню с температурой воды +4°C. Животное плавало, не имея возможности опираться на стенки и дно бани. Крыс извлекали в момент, когда животное практически не могло держаться на поверхности воды. После этого гистологическому исследованию подвергались: ткани сердца, почки, скелетной мышцы и головного мозга.

Результаты и обсуждение

По нашему мнению, особый интерес представляют результаты исследования морфологических показателей, полученных в эксперименте на животных в возрасте 24 мес.

В ткани головного мозга группы Инт животных нейроны выглядят морфофункционально угнетенными, т.е. ядро гомогенно гиперхромное, уменьшенных размеров, ядрышко просматривается очень редко, цитоплазма эозинофильная, плотная, ее объем также уменьшен. Постановка ШИК-реакции позволяет оценить степень представленности сосудов микроциркуляторного русла в ткани головного мозга, а окраска по Ван Гизону выявляет склероз стенки многих мелких артерий и артериол (Московская и др., 1995).

В почке выявлена существенная редукция гломерулярных капилляров, увеличение количества мезангиальных клеток, склероз как мезангиума, так и базальной мембраны Шумлянско-Боумана. Встречается полный склероз отдельных клубочков. В эпителии канальцев – явления гидропической дистрофии с деструкцией апикальных частей многих эпителиоцитов и отсутствием щеточной каемки, в просвете канальцев – объемные эозинофильные массы, что можно считать детритом дескамированного канальцевого эпителия (рис. 1). Интерстиций скелетной мышцы коллагенизирован, однако, сами мышечные волокна выглядят морфофункционально умеренно активными: ядра овальные, светлые, видна поперечная исчерченность волокон, саркоплазма содержит заметное количество РНК. Морфофункциональное состояние миокарда аналогичное, т.е. имеет место наличие выраженного промежуточного и периваскулярного склероза, миокардиоциты располагаются компактно.

У животных 2-й группы (Охл), погибших от переохлаждения при плавании в холодной воде, нейроны головного мозга имеют микроскопические признаки не только сниженной морфофункциональной активности, но заметное их количество оказалось в состоянии некробиоза, пикноза и апоптоза. Многие погибающие нейроны окружены несколькими клетками микроглии, что является картиной феномена сателлитоза. Кровоснабжение ткани головного мозга резко уменьшено, что хорошо видно по коллапсу многих капилляров. При этом венулы расширены и полнокровны (рис. 2). В почке изменения касаются функционирующих клубочков: на фоне спазма приносящих артериол капилляры выглядят полнокровными, мочеобразование при этом приторможено. Скелетная мышца имеет многочисленные участки коагуляции саркоплазмы и частые разрывы мышечных волокон, при окраске пикрофуксином отмечается появление оттенка фуксинофилии, что также свидетельствует о развитии повреждения мышечных волокон. В ткани сердца отмечается выраженный отек интерстиция миокарда, появление маргинации хроматина в ядрах кардиомиоцитов (апоптоз), полнокровие венул и капилляров сопровождается появлением диапедезных кровоизлияний. В исследованиях ряда авторов отмечены сходные патологические изменения (Жураківська, 2003; Мисула та ін., 2000; Jansky, 2003).

Таким образом, плавание в холодной воде 2-й группы животных (Охл) вплоть до гибели обусловило развитие резкого перераспределения крови со спадением капилляров во внутренних органах, не принимающих участие в действиях, направленных на «борьбу за существование», что стимулировало процессы дистрофии и апоптоза в них. Явления венозного полнокровия, наблюдаемые в тех же органах, свидетельствуют о развитии острой сердечной недостаточности. В страдающем миокарде также имеет место венозное полнокровие, даже с диапедезными кровоизлияниями.

Анализируя микроскопические особенности органов животных 3-й группы (Преп), удалось выявить влияние курса внутрибрюшинных инъекций экстракта плаценты на подопытных животных. Оказалось, что выше указанное введение обусловило увеличение количества капилляров в ткани головного мозга и миокарда, возможно, увеличена также длина капилляров в почечных клубочках (рис. 3). В кардиомиоцитах и скелетных миоцитах заметно увеличено содержание РНК в саркоплазме.

В 4-й группе (Преп+Охл) введение экстракта плаценты до физической нагрузки, сочетающейся со стрессом и холодом, изменяет микроскопическую картину изучаемых органов. При этом необходимо обратить внимание на то, что в 4-й группе животных, в отличие от 2-й группы (Охл), все крысы выжили, т.е. у данных животных наблюдалась компенсация адаптационных механизмов.

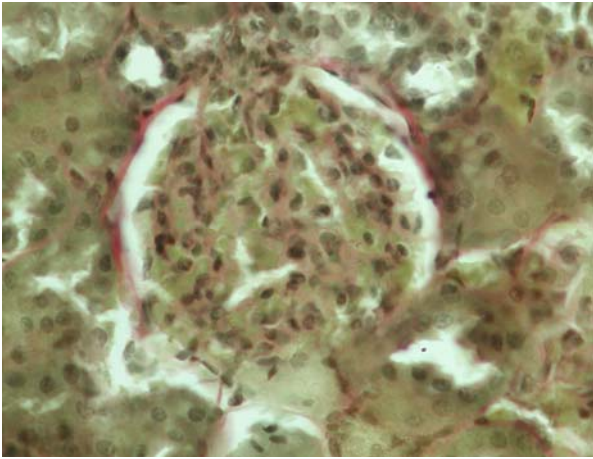


Рис. 1. Ткань почки интактного животного. Маленького размера клубочек с уплотненным частично склерозированным мезангием ($\times 1000$)

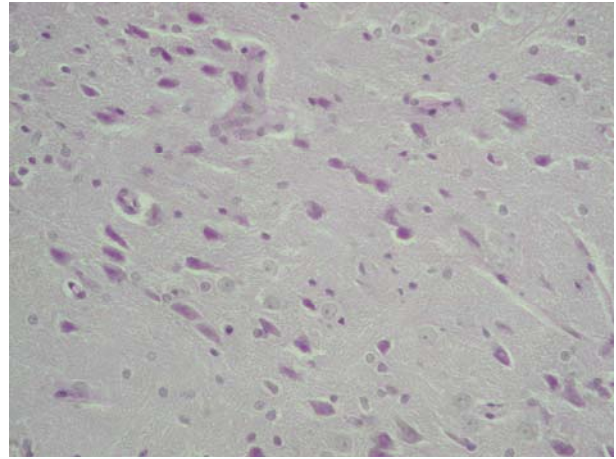


Рис. 2. Ткань головного мозга крысы после общего охлаждения. Обилие пикнотичных нейронов. Малое количество сосудов микроциркуляторного русла ($\times 400$)

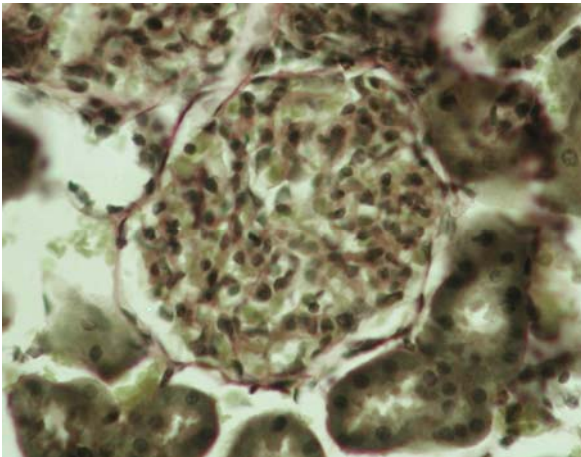


Рис. 3. Ткань почки крысы после введения криоконсервированного экстракта плаценты. Клубочек ажурного вида. Есть увеличение количества капилляров ($\times 1000$)

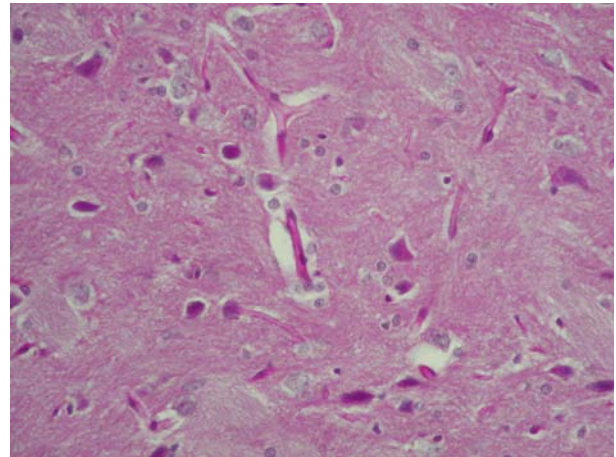


Рис. 4. Ткань головного мозга крысы после общего охлаждения на фоне введения экстракта плаценты. Увеличение количества сосудов микроциркуляторного русла ($\times 400$)

Выявлено, что у животных основной 4-й группы (Преп+Охл), также как и у группы 2 (Охл), наблюдаются микроскопические признаки перераспределения крови и развития острой сердечной недостаточности, однако это происходит на фоне гиперплазии капилляров и более благополучного морфофункционального состояния паренхиматозных элементов тканей. Так, на рис. 4 приведена микроскопическая картина ткани головного мозга животных группы (Преп+Охл), где прослеживается увеличение количества сосудов микроциркуляторного русла.

Регистрация электрокардиограммы показала отсутствие значимых различий электрофизиологических процессов миокарда у животных 1-й (Инт) и 3-й (Преп) групп. Нами регистрировались незначительные и нерегулярные изменения сердечного ритма, что, вероятно, связано с особенностями методики регистрации ЭКГ у животных.

В отличие от этого, у крыс 2-й (Охл) и 4-й (Преп+Охл) групп наблюдалось значительное снижение вольтажа электрокардиограммы. Кривые ЭКГ имели уплощенный вид, у некоторых животных группы Охл запись ЭКГ представляла собой почти прямую линию. По нашему мнению, использование данных ЭКГ для оценки адаптогенного эффекта от применения криоконсервированного экстракта плаценты не является, в отличие от гистологических показателей, достаточно информативным.

Выводы

По результатам проведенных исследований можно сделать вывод, что введение экстракта плаценты старым животным приводит к увеличению количества капилляров в разных тканях (относительно возрастной нормы), заметно увеличивает содержание РНК в саркоплазме кардиомиоцитов и скелетных миоцитов, что можно считать одним из проявлений происходящего «омоложения» тканей. Данные особенности, очевидно, являются одним из факторов, расширяющих адаптационные возможности старых животных, подвергнутых действию холодового стресса.

Список литературы

- Грищенко В.И., Гольцев А.Н. Трансплантация продуктов эмбриофетоплацентарного комплекса. От понимания механизма действия к повышению эффективности применения // Проблемы криобиологии. – 2002. – №1. – С. 54–84.
- Жураківська О.Я. Морфофункціональний стан міокарду різних відділів серця у ранні терміни після дії загальної глибокої гіпотермії // Укр. мед. альманах. – 2003. – Т.6, №3. – С. 50–52.
- Мисула І.Р., Гнатюк М.С., Сусла О.Б. Морфометрична оцінка вікових змін серця у експериментальних тварин // Вісник наукових досліджень. – 2000. – №3. – С. 83–84.
- Морозова Р.П., Козулина Е.П., Николенко И.А. и др. Плацента – источник биологически активных веществ // Укр. біохім. журн. – 1999. – Т.71, №4. – С. 21–29.
- Московская С.В., Иванов К.П., Левкович Ю.И., Мальцев Н.А. Микроциркуляция в коре головного мозга крыс на разных стадиях глубокой иммерсионной гипотермии // Физиологический журнал. – 1995. – Т.81, №6. – С. 95–98.
- Чижевський В.В., Прокопюк В.Ю. Хориальная минитрансплантация как метод коррекции ряда возрастных изменений (Экспериментальное наблюдение) // Материалы Международного симпозиума "Биоимплантология на пороге XXI века". – Москва, 2001. – С.73.
- Jansky L. Physiologic basis of human adaptation to cold // Cesk. Fysiol. – 2003. – Vol.52, №3. – P. 107–117.

ВПЛИВ КРІОКОНСЕРВОВАНОГО ЕКСТРАКТУ ПЛАЦЕНТИ НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ПОКАЗНИКИ ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИН ПРИ ЗАГАЛЬНОМУ ОХОЛОДЖЕННІ
А.К.Черемський, О.С.Прокопюк, Г.І.Губіна-Вакулик, В.В.Чижевський, О.В.Фалько

У результаті пошуку речовин, які сприяють підвищенню стійкості теплокровних організмів до холодового стресу, були отримані дані, що свідчать, що кріоконсервованій екстракт плаценти має протекторну дію, підвищує виживаність тварин, які піддавалися загальному охолодженню. Введення екстракту плаценти старим тваринам приводить до збільшення кількості капілярів у різних тканинах (щодо вікової норми), помітно збільшує зміст РНК у саркоплазмі кардіоміоцитів і кістякових міоцитів, що можна вважати одним із проявів «омолодження» тканин.

Ключові слова: *кріоконсервований екстракт плаценти, загальне охолодження.*

ADAPTING EFFECT OF CRYOPRESERVED PLACENTA EXTRACT ON MORPHOFUNCTIONAL ORGANISM INDICES DURING ACUTE GENERAL COOLING
A.K.Cheremskoy, O.S.Prokopyuk, G.I.Gubina-Vaculik, V.V.Chizhevskiy, O.V.Falko

As a result of searching for the substances contributing to an increase of homoiothermal organisms resistance to cold stress there were obtained the data about protective effect of cryopreserved extract of placenta and increase of survival of animals subjected to an general cooling. Placenta extract introduction to old animals results in hyperplasia of capillaries in various tissues (in respect of age norm), a remarkable rise in RNA content is observed in sarcoplasm of cardiomyocytes and skeletal myocytes, that probably could be considered as one of the manifestations of proceeding tissue "rejuvenation".

Key words: *cryopreserved extract of placenta, general cooling.*

Представлено В.І.Грищенком
Рекомендовано до друку Н.О.Бабенко