

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

ВЗАИМОСВЯЗЬ ЭЛЕМЕНТНОГО СОСТАВА И МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ПЛАЦЕНТЫ ПРИ ТАБАЧНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Л.В. ЛизурчикОренбургская областная клиническая больница № 2,
ул. Невельская, 24, 460000, г. Оренбург, Россия

РЕЗЮМЕ. Цель исследования – выявить взаимосвязь между элементным составом и морфофункциональными характеристиками плаценты крыс при табачной интоксикации. Определение элементного состава плаценты проводили с помощью масс-спектрометра Elan 9000 и атомно-эмиссионного спектрометра Optima 2000 V. Морфофункциональные характеристики плаценты изучали посредством приготовления серийных парафиновых гистологических срезов. Данные обрабатывали при помощи *U*-критерия Манна–Уитни. Установлено, что в результате пассивного курения происходило снижение плодовитости самок, нарушение физического развития плодов, снижение массы и толщины плаценты, уменьшение числа плодовых капилляров и материнских синусов плаценты. Наиболее часто встречаемыми патологическими изменениями гистологического строения плацент опытных групп оказалось развитие очагов расстройств кровообращения, воспалительные и атрофические изменения. При сравнении элементного состава у опытных групп были выявлены более низкие значения магния и железа, на фоне более высоких значений свинца и кадмия. Выявленный дисэлементоз в совокупности с патоморфологическими изменениями плаценты стал причиной плацентарной недостаточности, которая в свою очередь привела к задержке внутриутробного развития плодов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: пассивное курение, токсические микроэлементы, эссенциальные микроэлементы, крысы.

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на расширение масштабов борьбы против табака, курение по-прежнему остается одним из ведущих факторов риска смерти и инвалидности во всем мире (Reitsma et al., 2017). Распространенность курения среди женщин в России возросла с 5% в 1980-х годах до 20% в 2000-х годах (Kharkova et al., 2016). Не меньшую угрозу представляет проблема пассивного курения (Zhou et al., 2019). Установлено, что при пассивном курении возможно повышение уровня никотина в плазме крови, которое эквивалентно уровню при обычном курении табака (Okoli et al., 2007). По статистике более трети женщин в возрасте от 15 лет и старше регулярно подвергаются воздействию вторичного табачного дыма (Kuzina et al., 2016). Сигаретный дым, как первичный, так и вторичный содержит тысячи компонентов, включая канцерогены и цитотоксические химические

вещества (Lewis et al., 2017). Воздействие пассивного курения коррелирует с повышением токсических элементов, которые являются антагонистами ряда эссенциальных макро- и микроэлементов (Yang et al., 2010; Dursun et al., 2016). Курение является существенным фактором, который влияет не только на репродукцию и процесс беременности, но и на потомство. Опасность табачного дыма заключается в том, что он влияет на сокращение срока беременности, вес новорожденного и структуру плаценты (Urbaniak et al., 2015). В крупномасштабных эпидемиологических исследованиях было установлено, что курение во время беременности может повышать риск отторжения плаценты, а также ее предлежания (Shobeiri et al., 2017; Shobeiri and Jenabi, 2017).

Современные исследования подтверждают, что пассивное курение во время беременности способно негативно влиять на организм матери и

* Адрес для переписки:
Лизурчик Людмила Владиславовна
E-mail: vaisvais13@mail.ru

будущего ребенка, поэтому понимание данных механизмов имеет центральное значение для обеспечения здоровой беременности и развития ребенка.

Цель исследования – выявить взаимосвязь между элементным составом и морфофункциональными характеристиками плаценты крыс при табачной интоксикации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальные исследования выполнялись в соответствии с положениями Хельсинской декларации о гуманном отношении к животным. Исследования проводили в условиях экспериментально-биологической клиники на 20 половозрелых самках Wistar, из числа которых были сформированы две группы – контрольная и опытная. Экспозицию самок крыс в атмосфере табачного дыма проводили до и после беременности. В течение 3 недель небеременные крысы опытной группы ежедневно (2 раза в день) подвергались 30-минутному воздействию табачного дыма в затравочной камере. По завершении этого периода к группам самок добавляли самцов для получения потомства. После установления беременности, воздействие табачным дымом продолжалось еще 3 недели. Каждая крыса опытной группы получала максимум 0,048 мг никотина, что эквивалентно дозе среднестатистического курильщика. Контрольная группа на протяжении всего эксперимента 2 раза в день в течение 30 мин находилась в затравочной камере при отсутствии повреждающего фактора. Для проведения исследований фетоплацентарного комплекса, отобранный материал был зафиксирован в 10%-ном нейтральном формалине с последующим приготовлением серийных парафиновых гистологических срезов, которые после депарафинизации были окрашены гематоксилином и эозином.

Элементный состав плаценты определяли в лаборатории АНО «Центр биотической медицины» на ИСП-АЭС и ИСП-МС. Статистическую обработку цифрового материала выполняли с использованием приложения «Excel» и «Statistica 6.0». Статистическую значимость различий между группами оценивали с помощью *U*-критерия Манна–Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате анализа полученных в эксперименте данных выявлено снижение плодовитости

крыс в опытной группе на 14,1% ($p \leq 0,05$) по сравнению с контрольной, отмечалось снижение среднего веса на 14,9% ($p \leq 0,05$) и длины плодов на 22,4% ($p \leq 0,05$). Помимо изменения количества плодов и их физического развития было обнаружено 4 мертвых плода в группе, находящейся под действием табачного дыма. Выявлены изменения в морфометрических параметрах плаценты опытной группы, масса плаценты уменьшалась на 5,2% ($p \leq 0,05$), толщина – на 8,4% относительно контроля. Наблюдалось снижение числа плодовых капилляров на 14,3% ($p < 0,05$) и материнских синусов на 23,4% ($p < 0,01$) с общей тенденцией уменьшения их диаметров.

Воздействие табачного дыма оказало влияние на гистологическое строение плаценты. В плацентах животных опытных групп наблюдалось неравномерное утолщение хориальной пластинки плодной части, обнаружены расширенные толстостенные кровеносные сосуды с неравномерным полнокровием. Отмечались мелкие кровоизлияния и усиленная клеточная инфильтрация с дальнейшим переходом на периваскулярную ткань. Нарушения кровообращения в большинстве случаев сопровождались структурно-функциональной активизацией париетального трофобласта, что выражалось в неравномерной очаговой гиперплазии гигантских клеток и появлении их многоядерных форм. Слой трофобласта имел неравномерную толщину, признаки пикноза, лизиса ядер и вакуолизации цитоплазмы, крупные очаги деструкции клеток с формированием различного размера полостей. Количество слоев увеличилось с 2–3 в контрольной группе до 6–8 слоев в опытной группе.

В плацентах животных с табачной интоксикацией обнаружено увеличение площади спонгиозного внелабиринтного слоя с беспорядочно расположенными гликогеновыми островками, которые отличались нарушенной структурой. Лабиринтовый слой плаценты, основными структурами которого являются плодовые капилляры и материнские лакуны, в опытной группе имел ряд патологических изменений: резкое полнокровие, отек или кровоизлияние. Достаточно часто отмечались очаги ишемии и тромбоза материнских лакунов. В клетках трофобласта развивались дистрофические изменения.

При сравнении элементного состава плацент опытной и контрольной групп были выявлены изменения (таблица).

Таблица. Концентрации микроэлементов в плаценте крыс, Me (q25-q75), мг/кг

Элемент	Группа	
	Контрольная	Опытная
Ca	104 (90–114)	114,3 (95–131)
P	1624 (1402–1786)	1391 (1257–1537)
Mg	134 (118–147)	73,4 (60,8–85) ^a
Na	1457 (1300–1603)	1435 (1259–1539)
K	2086 (1807–2295)	2040 (1838–2246)
Fe	152 (142–162)	116,3 (104–131) ^b
As	0,11 (0,089–0,125)	0,08 (0,066–0,11)
Si	41,7 (37,3–45,8)	33,1 (26,8–39,6)
Zn	18,1 (16,3–19,9)	15,6 (14,2–17,4)
Cu	2,1 (1,86–2,28)	2,4 (2,14–2,82)
I	0,16 (0,14–0,18)	0,18 (0,16–0,19)
Cd	0,00115 (0,001–0,0014)	0,006 (0,005–0,007) ^c
Pb	0,019 (0,016–0,028)	0,031 (0,026–0,039) ^b

Примечание: ^a – достоверность различий в показателях с контрольной группой – $p < 0,05$; ^b – достоверность различий в показателях с контрольной группой – $p < 0,01$; ^c – достоверность различий в показателях с контрольной группой – $p < 0,001$

В опытной группе уровень магния был достоверно ниже на 45,2% ($p \leq 0,05$). Отмечалась тенденция к более низким значениям остальных макроэлементов: фосфора на 14,4%, натрия на 1,6% и калия на 2,3%. Исключение составил кальций, концентрация которого стала выше на 9,03%. При сравнении содержания эссенциальных и условно эссенциальных элементов достоверные различия получены только по железу, содержание которого было на 23,4% ($p < 0,01$) ниже в опытной группе. Фиксировалась тенденция к более низким значениям содержания кремния и цинка на 21 и 14% соответственно. При этом отмечено увеличение содержания меди и йода на 14,4, и 12,4% соответственно. Закономерным представляется накопление токсических элементов в плаценте беременных крыс. В исследуемых образцах опытной группы выявлено достоверное увеличение содержания кадмия на 79,8% ($p < 0,001$) и свинца на 63,2% ($p < 0,05$). В отношении других химических элементов не обнаружено статистически значимых различий.

ОБСУЖДЕНИЕ

Правильное плацентарное развитие имеет центральное значение для здоровья как матери во время беременности, так и для плода. Анализируя полученные в эксперименте данные можно отметить, что пассивное курение оказало влияние на количество и физическое развитие плодов. Известно, что табак изменяет митохондриальную дыхательную функцию в кардиомиоцитах и легочной ткани, по этой причине существует гипотеза, что плацентарная митохондриальная функция тоже может быть изменена в результате курения (Bouhours-Nouet et al., 2005). В связи с этим полученные результаты показывают возможность развития плацентарной митохондриальной дисфункции, которая могла способствовать ограничению роста плода за счет ограничения доступности энергии в клетках.

Вместе с тем исследователи из Турции предполагают, что тиоционат, поступающий из сигарет, может ингибировать транспорт йода в плаценте и таким образом отрицательно влиять

на развитие плода с помощью этого механизма (Lebedev et al., 2019).

Важнейшим компонентом нормального функционирования плаценты является правильное развитие ее сосудистой системы (Pereira et al., 2015). Выявленное статистически значимое снижение числа плодовых капилляров и материнских синусов нарушает кровоснабжение плаценты, что также являлось фактором ограничения роста плода и в некоторых случаях приводило к фетальной смерти. Наиболее часто встречаемыми патологическими изменениями гистологического строения плацент опытных групп было развитие очагов расстройств кровообращения, воспалительные и атрофические изменения. Выше описанные результаты гистологии свидетельствуют о том, что замедленный рост плода обусловлен нарушением маточно-плацентарного кровообращения в результате повреждающего действия никотина. Таким образом, полученные гистологические данные свидетельствуют о том, что курение матери может повлиять на здоровье плода, изменив структуру плаценты, и, следовательно, ее функции (Heidari et al., 2018). Анализ данных элементного состава плаценты выявил, что при пассивном курении в плаценте наблюдаются низкие значения большинства жизненно необходимых элементов и высокие значения токсичных элементов. Выявленный дефицит магния, предположительно, как и его избыток способен угнетать работу каспазы-3, которая необходима для нормального функционирования плаценты (Gao and Zou, 2006). Наблюдаемое низкое содержание железа опасно для будущего ребенка, так как внутриутробное количество данного элемента имеет важное значение для развития плода и помогает создать при рождении запасы железа, достаточные для поддержания роста в раннем младенчестве (Cao and Fleming, 2016; Notova et al., 2018). Из всех макроэлементов, более высокое содержание фиксируется только у кальция.

Установлено, что курение является одним из факторов, который способствует образованию отложений кальция в плаценте (Szymanowski et al., 2007). Из-за кальциноза плаценты плод не получает достаточное количество питательных компонентов и кислорода, что в дальнейшем может вызвать у ребенка ряд патологий, а в некоторых случаях привести к мертворождению (Kvan et al., 2018).

Отмечено значительное повышение концентраций кадмия и свинца в плацентах крыс с табачной интоксикацией. Кадмий и другие металлические ионы могут действовать как металлоэстрогены и эндокринные разрушители тканей и нарушать фетальное развитие у млекопитающих (Stasenko et al., 2010). Негативное влияние происходит по отношению к синтезу и выделению лептина. Лептин вырабатывается трофобластом и может регулировать органогенез и развитие плода. Предполагают, что кадмий приводит к снижению синтеза плацентарного лептина, который, в свою очередь, нарушает образование плацентарного прогестерона. Такие нарушения являются еще одним доказательством эндокринного влияния кадмия и свинца как компонентов табачного дыма на репродуктивную способность женщин. Группой китайских ученых было установлено, что курение сигарет беременными женщинами увеличивает накопление кадмия в плацентарной ткани и возможно, именно этот элемент оказывает стимулирующее действие на производство металлотиионеина плаценты (Ronco et al., 2005). Повышенные концентрации кадмия и свинца в плаценте беременных женщин повышают риск возникновения самопроизвольного аборта (Ome-ljaniuk et al., 2018). Поэтому уровни этих тяжелых металлов могут быть использованы, как дополнительные маркеры к уже существующим диагностическим процедурам, особенно в ранние сроки беременности в качестве новых инструментов в перинатальной помощи, чтобы позволить провести раннюю диагностику патологии беременности и, особенно, предотвратить самопроизвольные аборты (Lebedev et al., 2018).

ВЫВОДЫ

Учитывая изменения, наблюдаемые в плацентах крыс, можно предположить, что выявленный дисэлементоз, в совокупности с патоморфологическими изменениями в плаценте, является причиной плацентарной недостаточности у беременных самок крыс. Спровоцированная воздействием табачного дыма плацентарная недостаточность привела к задержке внутриутробного развития плодов и эмбриональной гибели у экспериментальных животных в результате нарушения трофической, транспортной, метаболической и других функций плаценты.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Bouhours-Nouet N., May-Panloup P., Coutant R, de Casson F.B., Descamps P., Douay O., Reynier P., Ritz P., Malthiery Y., Simard G. Maternal smoking is associated with mitochondrial DNA depletion and respiratory chain complex III deficiency in placenta. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2005; 288(1): E171–177. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00260.2003>.
- Cao C., Fleming M.D. The placenta: the forgotten essential organ of iron transport. *Nutr. Rev.* 2016; 74(7): 421–431. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuw009>.
- Dursun A., Yurdakok K., Yalcin S.S., Tekinalp G., Aykut O., Orhan G., Morgil G.K. Maternal risk factors associated with lead, mercury and cadmium levels in umbilical cord blood, breast milk and newborn hair. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2016; 29(6): 954–961. <https://doi.org/10.3109/14767058.2015.1026255>.
- Gao H., Zou L. Effect of magnesium sulfate on fetal rats of fetal growth retardation and its relation with expression of caspase-3 on the placenta of maternal rat. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi.* 2006; 41(8): 525–528.
- Heidari Z., Mahmoudzadeh-Sagheb H., Sheibak N. Quantitative changes of extravillous trophoblast cells in heavy smoker mothers compared with healthy controls. *Reprod Fertil Dev.* 2018; 30(2): 409–414. <https://doi.org/10.1071/RD17041>.
- Kharkova O., Krettek A., Grjibovski A., Nieboer E., Odland O. Prevalence of smoking before and during pregnancy and changes in this habit during pregnancy in Northwest Russia: a Murmansk county birth registry study. *Reproductive Health.* 2016; 13: 18. <https://doi.org/10.1186/s12978-016-0144-x>.
- Kuzina O.A., Vasilevskaya G.V., Avdeeva M.E. About relevance of passive smoking during pregnancy. *Interactive sci.* 2016; 1. <https://doi.org/10.21661/r-17465>.
- Kvan O., Gavrish I., Lebedev S., Korotkova A., Miroshnikova E., Bykov A., Serdaeva V., Davydova N. Effect of probiotics on the basis of *Bacillus subtilis* and *Bifidobacterium longum* on the biochemical parameters of the animal organism. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2018; 25(3): 2175–2183. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0534-9>.
- Lebedev S., Gavrish I., Rusakova E., Kvan O., Gubaidullina I. Influence of various chromium compounds on physiological, morpho-biochemical parameters, and digestive enzymes activity in Wistar rats. *Trace elements and electrolytes.* 2018; 35(4): 242–245. <https://doi.org/10.5414/TEX0155419>.
- Lebedev S., Gavrish I.A., Gubaydullina I.Z. Different chrome sources influence on morphobiochemical indicators and activity of digestive enzymes in wistar rats. *Agricultural biology.* 2019; 54(2): 304–315. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2019.2.304rus>.
- Lewis J.B., Hirschi K.M., Arroyo J.A., Bikman B.T., Kooyman D.L., Reynolds P.R. Plausible Roles for RAGE in Conditions Exacerbated by Direct and Indirect (Secondhand) Smoke Exposure. *Int. J. Mol. Sci.* 2017; 18(3): 652. <https://doi.org/10.3390/ijms18030652>.
- Notova S., Lizurchik L., Kiyaveva E., Larjushina I., Marshinskaya O., Kazakova T. Influence of passive smoking on some biochemical characteristics of amniotic fluid *FEBS Open Bio.* 2018; 8(51):229.
- Okoli C.T., Kelly T., Hahn E.J. Secondhand smoke and nicotine exposure: a brief review. *Addict Behav.* 2007; 32(10): 1977–1988. <https://doi.org/10.1016/j.addbeh.2006.12.024>.
- Omeljaniuk W.J., Socha K., Soroczynska J., Charkiewicz A.E., Laudanski T., Kulikowski M., Kobylec E., Borawska M.H. Cadmium and Lead in Women Who Miscarried. *Clin Lab.* 2018; 64(1): 59–67. <https://doi.org/10.7754/Clin.Lab.2017.170611>.
- Pereira R.D., De Long N.E., Wang R.C., Yazdi F.T., Holloway A.C., Raha S. Angiogenesis in the placenta: the role of reactive oxygen species signaling. *Biomed Res Int.* 2015; 2015: 814543. <https://doi.org/10.1155/2015/814543>.
- Reitsma M.B., Fullman N., Salama J.S. Smoking prevalence and attributable disease burden in 195 countries and territories, 1990–2015: a systematic analysis from the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet.* 2017; 89(10082): 1885–1906. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)30819-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)30819-X).
- Ronco A.M., Arguello G., Suazo M., Llanos M.N. Increased levels of metallothionein in placenta of smokers. *Toxicology.* 2005; 208(1): 133–139. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2004.11.016>.
- Shobeiri F., Jenabi E. Smoking and placenta previa: a meta-analysis. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2017; 30(24): 2985–2990. <https://doi.org/10.1080/14767058.2016.1271405>.
- Shobeiri F., Masoumi S.Z., Jenabi E. The association between maternal smoking and placenta abruption: a meta-analysis. *J Matern. Fetal. Neonatal. Med.* 2017; 30(16): 1963–1967. <https://doi.org/10.1080/14767058.2016.1235694>.
- Stasenko S., Bradford E.M., Piasek M., Henson M.C., Varnai V.M., Jurasović J., Kusec V. Metals in human placenta: focus on the effects of cadmium on steroid hormones and leptin. *J. Appl. Toxicol.* 2010; 30(3): 242–253. <https://doi.org/10.1002/jat.1490>.
- Szymanowski K., Chmaj-Wierzchowska K., Florek E., Opala T. Do calcification of placenta reveal only maternal cigarette smoking? *Przegl Lek.* 2007; 64(10): 879–881.
- Urbaniak T., Klejewski A., Sobczyk K. Influence of smoking on pregnancy course and fetal development. *Przegl.Lek.* 2015; 72(3): 144–147.
- Yang L., Tong E.K., Mao Z., Hu T.W. Exposure to secondhand smoke and associated factors among non-smoking pregnant women with smoking husbands in Sichuan province, China. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2010; 89(4): 549–557. <https://doi.org/10.3109/00016341003713851>.
- Zhou Y.H., Mak Y.W., Ho G.W.K. Effectiveness of Interventions to Reduce Exposure to Parental Secondhand Smoke at Home among Children in China: A Systematic Review. *Int. J. of Environmental Res. and Public Health.* 2019; 16(1): 107. <https://doi.org/10.3390/ijerph16010107>.

THE INTERCONNECTION OF THE ELEMENTAL COMPOSITION AND MORPHOFUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF PLACENTA DURING THE TOBACCO INTOXICATION

L.V. Lizyorchik

Regional Clinical Hospital № 2 Perinatal Centre,
Nevelskaya str., 24, 460000, Orenburg, Russia

ABSTRACT. The aim of the research was to study the interconnection between the elemental composition and morphofunctional characteristics of the rat placenta during the tobacco intoxication. Determining the elemental composition of the placenta was performed using an Elan 9000 mass spectrometer and an Optima 2000 V atomic emission spectrometer. The morphofunctional characteristics of the placenta were studied by preparing the serial paraffin histological sections. Data processing was performed using the Mann-Whitney U-test. It was established that as the result of a passive smoking, the fertility of females decreased, the physical development of fetuses also decreased, the weight and thickness of the placenta declined, the number of fetal capillaries and maternal sinuses of the placenta decreased. The most common pathological changes in the histological structure of the placentas of the experimental groups were the development of foci of circulatory disorders, inflammatory and atrophic changes. When comparing the elemental composition of the experimental groups, lower values of magnesium and iron were found, against the background of higher values of lead and cadmium. Identified dislementasis in conjunction with the pathological changes in the placenta caused a placental insufficiency, which in turn led to the delay in fetal development of the fetus.

KEYWORDS: passive smoking, toxic trace elements, essential trace elements, rats.