ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБГРУНТУВАННЯ РЕАКЦІЇ ХОРИАЛЬНОЇ ТКАНИНИ ЛЮДИНИ НА ГІПОКСІЮ РІЗНОГО СТУПЕНЯ ТЯЖКОСТІ

Кузьміна О. О., Кузьміна І. Ю.

*Національний медичний університет, м.Харків, Україна*

oo.kuzmina@knmu.edu.ua

Вступ. Процеси взаємодії материнського організму і ембріона відбуваються завдяки хориону, який представляє біологогіческую тканину, яка існує тільки в організмі жінки до 12 тижнів вагітності. Вивчення впливу різних чинників, що підвищують життєздатність хоріона, є актуальною проблемою сучасної ембріології.

Метою дослідження було вивчення впливу гіпоксії на нативну хориальной тканину людського ембріона.

Матеріал і методи. Моделювання процесу вростання ембріонального цитотрофобласту в ендометрій проводилося на коллагеновому гелі, імітуючи ділення і зростання клітин хоріона у 1 триместрі вагітності. Хоріон отримували в стерильних умовах з абортного матеріалу до 12 тижнів вагітності, відмивали в стерильному живильному середовищі, фрагментували під мікроскопом до розмірів ~ 2-3 мм (щоб були захоплені термінальні ділянки хориальної тканини). Гель розливали у 12 лунок планшетів для культивування. Шляхом пасажу, фрагменти хориальной тканини поміщали на гель і інкубували протягом 2-х годин при температурі 37 ° С. Після фіксації хоріона на гелі наливали в лунку 1 мл живильного середовища (Medium) і продовжували інкубацію протягом доби, проводячи контроль за зростанням культури кожні 8 годин.

Через 24 години лунки з культурою ембріональної тканини поміщали в інкубатори при температурі 37 ° С з різною концентрацією кисню (О2) в повітрі, попередньо розділивши кожну групу на 4 групи. 1-а група - концентрація О2 – 30,0%, (гіпоксія легкої, початкової, ступеня тяжкості); 2-а група - концентрація О2 - 20%, (гіпоксії середньої, компенсованій, ступеня тяжкості); З-я група - концентрація О2 - 10%, (гіпоксія високого, некомпенсованого, ступеня тяжкості); 4-а група - концентрація О2 - 6%, (критичний ступінь гіпоксії). Контролем служили лунки з культурою хоріона, що поміщені в термостат при t 37 ° C з нормальною концентрацією кисню в повітрі (40%). Тривалість інкубації лунок всіх підгруп в подальшому була від 2 до 5 діб. Після закінчення терміну інкубації культуру витягували з термостата, промивали стерильним розчином PBS (1 мл), фіксували в 4% розчині формаліну. Препарати були підготовлені для морфологічного дослідження шляхом приготування парафінових блоків і отримання напівтонких зрізів.

Результати дослідження. При морфологічному дослідженні виявлено, що при нормальному газовому складі повітря (контроль), в перші 48 годин паросткова зона клітин формується біля дистального кінця ворсинки хоріона. Надалі зростання культури триває радіально і вглиб колагенового гелю. До 5-ї доби культивування, клітини пенетрірують у колагеновий матрікс, зливаються, утворюючи густу зону зростання, забезпечуючи, тим самим, хорошу фіксацію хориальної ворсинки на коллагеновому гелі.

При аналізі реакції хориальної тканини на експериментальну гіпоксію в 1 групі виявлено, що при гіпоксії легкого (початкового) ступеня тяжкості на другу добу культивування спостерігається посилення зони росту клітин навколо кінцевих ділянок культури, шар клітин потовщується, ущільнюється і стає густим, що відповідає фазі активізації проліферативних процесів хоріона. Така реакція зростаючого хоріона може бути розцінена як компенсаторно-пристосувальна на недолік кисню.

При гіпоксії середнього (компенсованого) ступеня тяжкості (2 група) клітинний ріст поширюється радіально і стає видимим з 16-18 години інкубації культури. Клітини ростуть спочатку ізольовано від сусідніх ворсин, через 48 годин інкубації вони з'єднуються, формуючи шар клітин з цитотрофобласту, що нагадує раковину. Дані ознаки зміни зростання культури можна трактувати як компенсаторно-пристосувальну реакцію хориальной тканини на гіпоксію.

При гіпоксії високого (некомпенсованого) ступеня тяжкості (3-я група) клітини цитотрофобласту підтримують свій проліферативний потенціал протягом перших 24 годин інкубації. На 2-у добу настає «вибух» проліферативної активності, що приводить до стимуляції росту колонії клітин in vitro і руйнування рівномірного зростання клітин. До 4-ї доби зростання хориальной тканини припиняється, культура починає старіти, поширення цитотрофобласту поперек поверхні гелю блокується На 5-у добу культура гине. Даний феномен можна розцінити як виснаження і зрив механізмів адаптації в зв'язку з негативною дією гіпоксії на культуру тканини хоріона.

При критичному ступеню гіпоксії зростання клітинної культури (4-а група) спостерігається лише у перші 8-10 годин від моменту інкубації в умовах гіпоксії. Паросткова зона визначається в окремих районах хоріона, а в деяких - зовсім відсутня. На 2-у добу культура гине.

Висновки. На ранніх етапах розвитку гіпоксії легкого ступеня тяжкості, хоріон реагує розвитком проліферативних процесів, які регулюються компенсаторно-пристосувальними реакціями хоріона. При триваючому впливі гіпоксії відбувається часткове виснаження механізмів адаптації і на перший план виходять процеси гіпертрофії клітин цитотрофобласту, можливо, як наступна фаза адаптаційного процесу. Ступінь враженості цих процесів залежить від тривалості гіпоксичного впливу на хоральну тканину. Всі зміни, що відбуваються, спрямовані на компенсацію нестачі кисню в зростаючої культурі хоріона за рахунок процесів проліферації, гіпертрофії і інвазії, що забезпечує подальше зростання і розвиток ембріона без істотних порушень гестаційного процесу.