

Морфологические и иммуногистохимические особенности структур плаценты у беременных после экстракорпорального оплодотворения

Л.Е. Туманова, Е.А. Молчанова, Т.Д. Задорожная

ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии НАМН Украины» г. Киев

В статье приведены результаты морфологических исследований структуры плацентарного барьера, иммуногистохимические особенности, изучены новые аспекты изменений в материнской и плодовой частях плаценты, у женщин с индуцированной беременностью высокого риска после экстракорпорального исследования – ЭКО (ICSI).

Ключевые слова: плацентарный барьер, иммуногистохимическая экспрессия антигенов, цитотрофобласт, пролиферативный маркер Ki-67, ЭКО (ICSI).

Широкое внедрение методов вспомогательных репродуктивных технологий привело к тому, что доля индуцированных беременностей за последние годы возросла, а проблема сохранения этих беременностей и рождения здоровых детей приобрела особую актуальность. Одним из важных аспектов, способствующих снижению репродуктивных потерь, является изучение морфологических и иммуногистохимических особенностей плаценты [1–5].

Усовершенствование существующих методов исследования, включая возможность определения иммуногистохимических маркеров, позволяет значительно повысить точность определения последовательности и сущности событий, происходящих на ранних стадиях развития плаценты. В литературе содержится немного информации о четкой дифференциации процессов, вовлеченных в морфогенез плаценты. Плацента – это уникальный орган, который выполняет разнообразные функции. Во время развития осложнений беременности плацента является мишенью патологического процесса. Патологические изменения в плодово- и/или маточно-плацентарном комплексе с нарушением компенсаторно-приспособительных механизмов на молекулярном, клеточном и тканевом уровнях ведут к нарушению транспортной, трофической, эндокринной, метаболической, антиоксидантной функции плаценты и лежат в основе патологии плода и новорожденного. Тяжелые последствия для новорожденных делают необходимым дальнейшее изучение морфологических и иммуногистохимических особенностей структуры плаценты [6–10].

Цель исследования: оценить результаты морфологических исследований структуры плацентарного барьера, иммуногистохимических особенностей, изучить новые аспекты изменений в материнской и плодовой частях плаценты, у женщин с индуцированной беременностью высокого риска после экстракорпорального оплодотворения – ЭКО (ICSI).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведены исследования 32 плацент женщин, которые разделены на следующие группы: I группа – ЭКО (ICSI) (мужской фактор) – 10 наблюдений;

II группа – ЭКО (ICSI) (мужской фактор и трубно-перитонияльное бесплодие) – 12 наблюдений; контрольная группа (КГ) – плаценты от женщин с физиологическим течением беременности – 10 наблюдений.

Для достижения поставленной цели в исследовании были использованы следующие методы:

1. Органометрический метод – включает измерения массы плаценты, ее размеров (максимальный и минимальный диаметр, максимальную и минимальную толщину), диаметр и толщину пупочного канатика, а также плацентарно-плодовый коэффициент (ППК).

2. Макроскопический метод – проводят определение целостности тканей плаценты, его реконструкцию. Изучали форму материнской, плодовой поверхности, пупочного канатика. При осмотре материнской поверхности определяли целостность децидуальной ткани, форму, размеры плаценты, наличие вспомогательных частиц, их количество и размеры, выраженность и глубину борозд. Также отмечали выраженность и глубину зон с нетипичной окраской и плотностью, а также свежих и старых сгустков крови: при осмотре плодовой поверхности плаценты обращали внимание на форму и контуры, количество основных сосудов хориона, окраску амниона, место прикрепления пуповины, участки повреждения, отслоения, наличие ободка на плаценте. Отмечали также наличие образований, искажающих поверхность, а именно кист и опухолей; плодных оболочек, отмечали их толщину, окраску, включения (кровь, меконий) и отек; пуповины – обращали внимание на изменение цвета поверхности, длину и толщину; отек соединительной ткани, наличие настоящих и ложных узлов, гематом, травматических повреждений.

3. Общегистологический метод – проводили по стандартной схеме.

4. Иммуногистохимический метод: а) косвенный стрептавидин-пероксидазный метод выявления уровня экспрессии антигенов пролиферативного фактора Ki-67; б) непрямой стрептавидин-пероксидазный метод выявления уровня экспрессии CD 68, product code: RTU-CD68, Novocastra, Ready-to-Use Mouse Monoclonal Antibody, Clon S14H12.

5. Количественный метод – определение индекса пролиферации, характеризующий относительное количество клеток с признаками пролиферации. В каждом случае было подсчитано 100 клеток.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Гистологически наиболее выраженные и распространенные изменения были обнаружены во II группе исследуемых плацент с сочетанной патологией, по сравнению с КГ и I группой. Так, было установлено в децидуальной оболочке (материнская часть плаценты) наличие выраженных дистрофических изменений децидуальных клеток с перинцеллюлярным отеком и пикнозом ядер. В части клеток децидуальной оболочки отмечали позитивную экспрессию иммуногистохимической макрофагальной реакции (рис. 1) в цитоплазме, менее выраженную в мембранах этих клеток. Децидуальная оболочка неравномерной толщины с очагами фибриноида и истончением линии Нитабух.

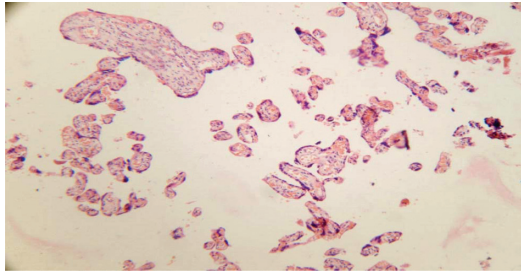


Рис. 1. Плацента женщины II группы. Экспрессия МКАТ к макрофагам (CD 68). Непрямой стрептавидин-пероксидазный метод (иммуногистохимическое исследование). Микрофотография. Ок. 10. Обх. 10

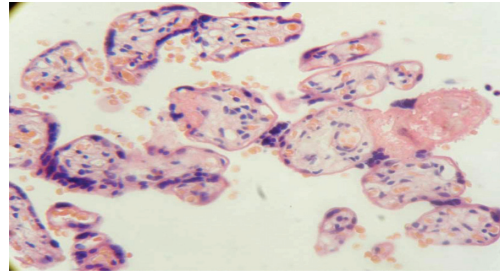


Рис. 2. Плацента женщины II группы. Очаги вневорсинчатого цитотрофобласта и «замурованных ворсин». Окраска пикрофуксином по Ван-Гизон. Микрофотография. Ок. 10. Обх. 10

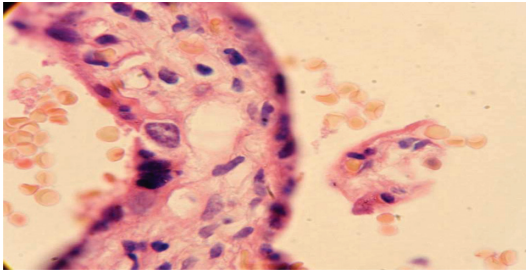


Рис. 3. Плацента женщины II группы. Неравномерно выраженная экспрессия МКАТ к макрофагам (CD 68). Непрямой стрептавидин-пероксидазный метод (иммуногистохимическое исследование). Микрофотография. Ок. 10. Обх. 10

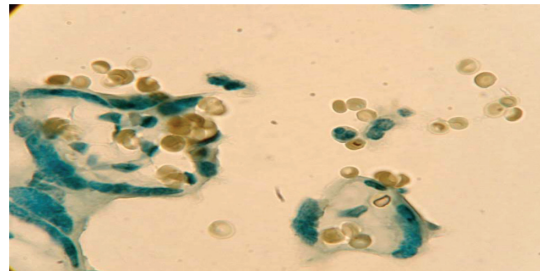


Рис. 4. Плацента женщины КГ. Очаги фибриноида без клеток цитотрофобласта. Окраска гематоксилин-эозином. Микрофотография. Ок. 10. Обх. 10

Следует отметить также наличие в межворсинчатом пространстве, под децидуальной оболочкой, очагов фибриноида с множеством клеток вневорсинчатого цитотрофобласта и очагов «замурованных» склерозированных ворсинок (рис. 2).

При этом выявлена выраженная иммуногистохимическая экспрессия антигенов макрофагов CD 68 (рис. 3).

У женщин КГ были отмечены единичные очаги фибриноида без вневорсинчатого цитотрофобласта (рис. 4).

Следует отметить, что в большинстве ворсинок наличие крупных клеток синцития и цитотрофобласта по 2–3 в одной ворсинке с пикнозом ядер, увеличением их размеров (рис. 5, а, б, в). В КГ обнаружены лишь единичные клетки цитотрофобласта в ворсинках.

В плацентах женщин II группы исследования отмечается дисхроноз развития ворсинок, кроме створчатых с фиброзом стромы, обнаружены поля терминальных мелких ворсинок (рис. 6, а, б, в) с единичными сосудами в фуксинофильной строме. Такие «поля» терминальных ворсинок располагаются неравномерно, занимая более 1/2 площади в 10 полях зрения, что составляет приблизительно 50%.

Превалируют ворсины с истонченным эпителием, а также участки ворсин («афункциональные зоны»), которые соединяются между собой синцитиальными узелками (рис. 7, а, б, в).

Эти особенности структуры промежуточных дифференцированных ворсин приводят к сокращению диффузной поверхности ворсинчатого дерева и уменьшению объема межворсинчатого пространства.

Иммуногистохимические исследования пролиферативного маркера Ki-67 (таблица) выявили достоверное увеличение в ядрах эпителия ворсин хориона (до 21%), а также некоторое увеличение пролиферации ядер децидуальных клеток во II группе наблюдений по сравнению с I и КГ, что свидетельствует о более выраженных повреждениях в этих структурах с последующей регенерацией. Эти данные подтверждает и значительное увеличение макрофагального маркера CD 68 (таблица).

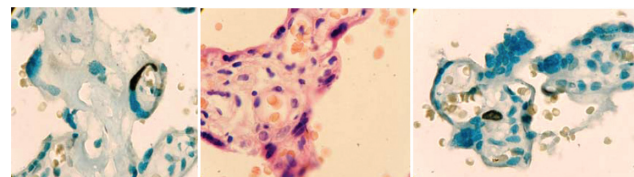


Рис. 5, а, б, в. Плацента женщины II группы. Пикноз ядер синцития и цитотрофобласта. Окраска гематоксилин-эозином. Микрофотография. Ок. 10. Обх. 20

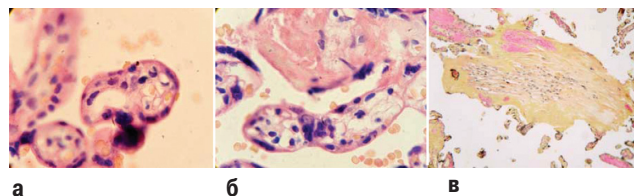


Рис. 6, а, б, в. Плацента женщины II группы. Поля терминальных мелких ворсинок с единичными сосудами либо с отсутствием их и фиброзом стромы. Окраска гематоксилин-эозином. Микрофотография. Ок. 10. Обх. 10

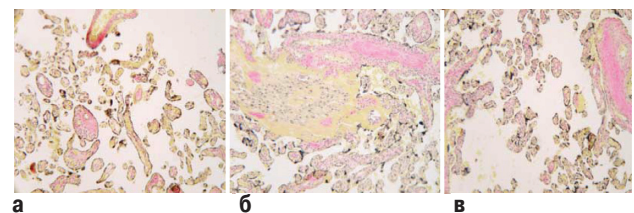


Рис. 7, а, б, в. Плацента женщины II группы. Очаги «афункциональных зон» ворсинок. Окраска гематоксилин-эозином. Микрофотография. Ок. 10. Обх. 10

Пролиферативный и макрофагальный маркеры в плаценте у обследуемых женщин (%)

Группы	Ki-67		CD 68	
	Децидуальная ткань	Ворсины хориона	Децидуальная ткань	Ворсины хориона
I (n=10)	1-2	3	2	5
II (n=12)	2-3	21	30	20-30
КГ (n=10)	0 - единичные	2	10	3

Следует отметить, что экспрессия МКАТ Ki-67 выражена в нарушенных (увеличенных в размерах), измененных формах ядер синцития и цитотрофобласта ворсинок терминальных. Маркер макрофагальной реакции имеет высокую экспрессию в децидуальной оболочке и ворсинах хориона во II группе наблюдений и низкую – в I группе, что связано с первым этапом апоптоза этих структур.

Выводы

Таким образом, выявленные гистохимические и иммуногистохимические изменения структур плацентарного

барьера обнаружили преобладание плацентарной дисфункции во II группе наблюдений по сравнению с I и контрольной группой (КГ), которые проявлялись нарушением во всех отделах плацент, особенно в синцитии ворсинок, что ведет к нарушению функции плаценты: обменной, газотранспортной между матерью и плодом. Иммуногистохимические маркеры также достоверно изменялись во II группе, где отмечалось повышение пролиферативной и макрофагальной реакций в сравнительном аспекте с I и КГ, что позволяет считать, что регенерация в этих структурах повышена.

Морфологічні й імуногістохімічні особливості структур плацент у вагітних після екстракорпорального запліднення

Л.Є. Туманова, О.О. Молчанова, Т.Д. Задорожна

Morphological and immunohistochemical features of structures of placentas of pregnant women after IVF (ICSI)

L.E. Tumanova, E.A. Molchanova, T.D. Zadorozhnaya

У статті наведені результати морфологічних досліджень структури плацентарного бар'єра, імуногістохімічні особливості, вивчені нові аспекти змін у материнській і плодовій частинах плаценти, у жінок з індукованою вагітністю високих ризиків після екстракорпорального запліднення.

Ключові слова: плацентарний бар'єр, імуногістохімічна експресія, цитотрофобласт, проліферативний маркер Ki-67, ЕКО (ІКСІ).

In the article there are presented the results of morphological studies of the structure of the placental barrier, immunohistochemical features, new aspects of changes in maternal and fetal parts of the placenta of women with induced pregnancy of high risk after IVF (ICSI) are studied.

Key words: placental barrier, immunohistochemical expression of antigens, cytotrophoblast, the proliferation marker Ki-67, IVF (ICSI).

Сведения об авторах

Туманова Лариса Евгеньевна – ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии НАМН Украины», 04050, г. Киев, ул. Платона Майбороды, 8; тел.: (067) 783-45-57. E-mail: solnce.o@voliacable.com

Молчанова Елена Александровна – ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии НАМН Украины», 04050, г. Киев, ул. Платона Майбороды, 8; тел.: (067) 783-45-57. E-mail: solnce.o@voliacable.com

Задорожная Тамара Даниловна – ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии НАМН Украины», 04050, г. Киев, ул. Платона Майбороды, 8; тел.: (067) 783-45-57. E-mail: solnce.o@voliacable.com

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Оразмурадов А.А., Апресян С.В. Плацентарная недостаточность: реалии и перспективы. М. 2009. – 31 с.
2. Филиппов О.С. Плацентарная недостаточность. – М.: МЕД пресс-информ. – 2009. – 159 с.
3. Bates D.O. An unexpected tail of VEGF and PIGF in pre-eclampsia// Biochem. Soc. Trans. – 2011. – Vol. 39, № 6. – P. 1576–1582.
4. ?Goswami D., Tannetta D.S., Fuchisawa, Redman CW, Sargent I.L. Excessive discharge of microparticles syncytiotrophoblast is a sign of early onset pre-eclampsia, but not normal blood pressure intrauterine delay // Placenta. – 2006. – Vol. 27, № 1. – P. 56–61.
5. Andraweera P.H., Dekker G.A., Lawrence J.A. Roberts. Placental expression of VEGF mRNA in the family of adverse pregnancy outcomes // Placenta. – 2012. – Vol. 33, № 6. – P. 467–472.
6. Alijotas-Reig J., Llurba E., Ma J. Gris. Potentiating maternal immune tolerance in pregnancy: A new challenging role for regulatory T cells// Placenta. – 2014. – Vol. 35, № 4. – P. 241–248.
7. Anderson U.D., Olsson M.G., Kristensen K.H., Åkerström B., Hansson S.R. Biochemical markers to predict preeclampsia// Placenta. – 2012. – Vol. 33, № 2. – P. S42–S47.
8. Parham P., Norman P.J., Abi-Rached L., Hilton H.G., Guethlein L.A. Immunogenetics of human placentation // Placenta. – 2012. – Vol. 33, № 2. – P. S71–S80.
9. Garrod A., Batra G., Ptacek I., Heazell A.E.P. Duration and method of tissue storage alters placental morphology – Implications for clinical and research practice // Placenta. – 2012. – Vol. 34, № 11. – P. 1116–1119.
14. Ornaghi S., Vergani P., Urban G., Giardini V., Moltrasio F., Leone B.E. Immunohistochemical expression of Annexin A5 in preeclamptic placentas // Placenta. – 2011. – Vol. 32, № 3. – P. 264–268.

Статья поступила в редакцию 02.07.2014