

©Е.В. Проценко, Ю.П. Барановская, А.П. Перетятко

ИММУНОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПЛАЦЕНТ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ПЛАЦЕНТАРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В.Н. Городкова Министерства здравоохранения России»

ИММУНОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПЛАЦЕНТ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ПЛАЦЕНТАРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ. Иммуногистохимическое исследование 30 плацент с компенсированной, суб- и декомпенсированной хронической плацентарной недостаточностью 37-40 недель гестации показало достоверное увеличение экспрессии VEGF в структурных компонентах плацент по мере прогрессирования ХПН. Важнейшими продуцентами VEGF являются децидуальные клетки базальной пластинки последа и синцитиотрофобласт терминальных ворсин.

ИМУНОМОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПЛАЦЕНТ ПРИ ХРОНІЧНОЇ ПЛАЦЕНТАРНОЇ НЕДОСТАТНОСТІ. Імуногістохімічне дослідження 30 плацент з компенсованою, суб- і декомпенсованої хронічної плацентарної недостатності 37–40 тижнів гестації показало достовірне збільшення експресії VEGF в структурних компонентах плацент у міру прогресування ХНН. Найважливішими продуцентами VEGF є децидуальної клітини базальної пластинки посліду і синцитиотрофобласт термінальних ворсин.

IMMUNOMORPHOLOGICAL ESPECIALLY PLACENTA PLACENTAL INSUFFICIENCY. Immunohistochemical study of 30 placentas with compensated, sub- and decompensated chronic placental insufficiency 37–40 weeks' gestation showed a significant increase in the expression of VEGF in the structural components of the placenta with the progression of chronic renal failure. The major producers of VEGF are decidual cells of the basal plate of the placenta syncytiotrophoblast and terminal villi.

Ключові слова: Васкул-ендотеліальний фактор росту, хронічна плацентарна недостатність, плацента.

Ключевые слова: васкуло-эндотелиальный фактор роста, хроническая плацентарная недостаточность, плацента.

Key words: vasculitis endothelial growth factor, and chronic placental insufficiency, placenta.

ВВЕДЕНИЕ. Распространенным осложнением беременности является хроническая плацентарная недостаточность (ХПН). Последняя встречается при невынашивании в 47,6–77,3 %, гестозе – в 32 %, а также сочетании беременности с экстрагенитальной патологией – в 25–45 % случаев. В 60 % наблюдений у женщин с беременностью, осложненной ХПН, формируется задержка внутриутробного развития плода [1].

В реализации ХПН существенную роль играют нарушения маточно-плацентарного и фето-плацентарного кровообращения, аномалии синтетической функции плаценты [2], состояние адаптивных и компенсаторных процессов (АКП) в системе мать–плацента–плод [3, 4]. Особую актуальность в современной науке приобретает исследование роли различных факторов роста в патогенезе плацентарной недостаточности [5]. Установлено, что в условиях гипоксии повышается продукция VEGF [6, 7, 8, 9]. Доказана важная роль VEGF в процессе ремоделирования спиральных артерий [10]. В эксперименте [11] показано, что VEGF увеличивает полезную площадь обменной поверхности плодовой части плаценты. Однако роль VEGF в формировании ХПН *in vivo* еще не изучена, в связи с чем целью настоящего исследования явилось изучение экспрессии VEGF в структурах плаценты при компенсированной, суб- и декомпенсированной стадиях ХПН.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Исследуемый материал – 30 последов 37–40 недель гестации – разделили на три группы в зависимости от стадии ХПН: I (группа сравнения) – компенсированная (10), II – субкомпенсированная (10), III – декомпенсированная (10).

Фактор роста VEGF Clon VG-1 выявляли иммуногистохимическим методом на парафиновых срезах. В качестве первичных антител использовали мышинные моноклональные антитела класса IgG_{2a} к сосудисто-эндотелиальному фактору роста в рабочем разведении 1:50. Реакцию проводили на парафиновых срезах после предварительной демаскировки антигена путем двукратного кипячения в цитратном буфере по 5 минут в СВЧ-печи при мощности 650 Вт. Эндогенную пероксидазу блокировали 1 % раствором перекиси водорода. Визуализацию комплексов антиген-антитело проводили стрептавидин-биотин-пероксидазным методом при помощи системы детекции LSAB2 System, HRP («Dako», Германия). Результат оценивали полуколичественным методом с использованием балльной системы от 0 до 3 в 10 полях зрения микроскопа в 100 клетках каждого поля зрения на увеличении x400.

Индекс экспрессии VEGF-1 вычисляли по формуле: индекс экспрессии = $\sum P(i) \cdot i / 100$, где i – интенсивность окрашивания в баллах от 0 до 3; $P(i)$ – процент клеток, окрашенных с различной степенью интенсивности.

Цифровой материал обрабатывали статистическими методами с помощью персонального компьютера с использованием стандартного пакета программного обеспечения «Excel-2000». Вычисляли средние арифметические значения, ошибки средних арифметических. Достоверность различий между вариационными рядами с нормальным типом распределения оценивали с помощью t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ. Все последы группы сравнения имели морфологический субстрат хронической плацентарной недостаточности – расстройства маточно-плацентарного (хронические геморагические инфаркты) и фето-плацентарного кровообращения (множественные мелкоочаговые псевдоинфаркты), воспаление (в ворсинчатом хорионе – 10 %, базальной пластинке – 10 % и deciduas parietalis – 10 %) и его исходы (поствоспалительный склероз – 30 %). Однако небольшой объем макропатологии (до 15 % площади плацентарной площадки) и разнообразие АКП (гиперплазия терминальных ворсин, капилляров терминальных ворсин, формирование СКМ, синцитиальных узелков), которые сочетаются между собой и выявляются во всех отделах плаценты – центральных, парацентральных и периферических – способствуют адекватному обмену между матерью и плодом, позволяют расценивать ХПН как компенсированную.

Иммуногистохимическая реакция с антителами к VEGF-1 расценена как умеренная в цитоплазме децидуальных клеток, синцитиотрофобласте терминальных ворсин и слабо выраженная (поэтому расцененная как отрицательная) во вневорсинчатом цитотрофобласте и эндотелии сосудов базальной пластинки. Индекс экспрессии VEGF-1 составил $1,52 \pm 0,04$ условных единицы (у.е.) в децидуальных клетках базальной пластинки и $1,02 \pm 0,02$ у.е. в синцитиотрофобласте терминальных ворсин.

В плацентах женщин с субкомпенсированной ХПН выявлялись аномалии формы в виде периферического ободка (в 30 % наблюдений), нарушения созревания ворсинчатого хориона по диссоциированному типу (30 %), расстройства маточно-плацентарного кровообращения в виде истинных хронических инфарктов (30 %). При этом объем макропатологии увеличился почти в два раза и составил 28,5 % площади плаценты.

Инфицированность последов увеличилась за счет доли бактериальной флоры (20 % исследований) и ассоциаций вирусов с хламидийной, уреоплазменной, микоплазменной инфекцией (30 %). При этом возбудитель чаще распространяется гематогенным путем, о чем свидетельствует наиболее частая локализация воспалительного процесса в ворсинчатом хорионе (60 %), децидуальной (40 %) и париетальной (30 %) оболочках последов.

Разновидности адаптивных и компенсаторных процессов при субкомпенсированной стадии ХПН те же, что и при компенсированной, однако в половине наблюдений (50 %) они имели очаговый характер и были выражены неравномерно.

Экспрессия VEGF-1 в структурах плаценты с субкомпенсированной ХПН отличалась от таковой группы сравнения большей интенсивностью иммуногистохимического окрашивания цитоплазмы децидуальных клеток и синцитиотрофобласта терминальных ворсин. В эндотелии сосудов базальной пластинки и ворсинчатого хориона реакция проявилась намного слабее, в связи с чем расценена как отрицательная. Индекс экспрессии VEGF-1 достоверно увеличился по сравнению с аналогичными показателями группы сравнения как в децидуальных клетках $1,64 \pm 0,06$

($p < 0,01$), так и синцитиотрофобласте терминальных ворсин $1,37 \pm 0,03$ ($p < 0,001$).

Достоверное увеличение значений индекса экспрессии VEGF-1 в децидуальных клетках ($p < 0,01$) и синцитиотрофобласте терминальных ворсин ($p < 0,01$) по сравнению с контролем согласуется с результатами исследований других авторов [3, 7, 8], выявивших увеличение продукции VEGF-1 плацентами при нарастании гипоксии. Отрицательный результат иммуногистохимического окрашивания эндотелия сосудов базальной пластинки и ворсинчатого хориона может быть обусловлен поствоспалительным склерозом в результате перенесенной гематогенной вирусной инфекции.

При декомпенсированной ХПН в сравнении с субкомпенсированной чаще встречаются нарушения созревания ворсинчатого хориона по диссоциированному типу (50 %); появляются патологические варианты нарушений созревания ворсин – по типу хаотично расположенных склерозированных (10 %), промежуточных дифференцированных (10 %) и недифференцированных ветвей (10 %), не встречающиеся в группах с компенсированной и субкомпенсированной плацентарной недостаточностью. Общий объем макропатологии (инфаркты, псевдоинфаркты) составляет более 30 % площади плацентарной площадки.

При декомпенсированной ХПН наблюдается увеличение количества инфицированных последов (80 %) в сравнении с субкомпенсированной при существенном возрастании роли ассоциаций вирусов с хламидийной и уреоплазменной инфекцией (в 2 раза).

Декомпенсации хронической плацентарной недостаточности способствуют ограниченные адаптивные возможности, которые, как правило, носят очаговый характер и проявляются полнокровием сосудов стволых и промежуточных ворсин. Поскольку последние не являются местом обменных процессов между матерью и плодом, эффективность подобной адаптивной реакции не значительна.

При декомпенсированной ХПН экспрессия VEGF-1 отчетливо выявлялась в виде коричневых гранул в цитоплазме тех же структурных компонентов плаценты. При этом индекс экспрессии VEGF-1 в децидуальных клетках ($1,97 \pm 0,06$) и синцитиотрофобласте терминальных ворсин ($1,7 \pm 0,04$) достоверно выше, чем в группах I ($p < 0,001$) и II ($p < 0,01$).

Оценка показателя VEGF-1 в динамике позволила констатировать достоверное увеличение индекса экспрессии в плацентах по мере прогрессирования хронической плацентарной недостаточности. Установлено, что децидуальные клетки и синцитиотрофобласт терминальных ворсин являются наиболее активными продуцентами VEGF-1 по сравнению с другими структурными компонентами плаценты.

Считаем, что нарастание интенсивности иммуногистохимической реакции в гистологических препаратах плацент по мере прогрессирования ХПН является эквивалентом компенсаторного процесса на клеточном уровне, направленного на пролонгирование беременности. Учитывая прямо пропорциональную взаимосвязь между продукцией фактора и степенью гипоксии, индекс экспрессии VEGF можно использо-

вать в качестве объективного критерия, позволяющего диагностировать стадии ХПН.

ВЫВОДЫ. К иммуно-морфологическим особенностям плацент при хронической плацентарной недостаточности в третьем триместре беременности следует относить увеличение экспрессии VEGF-1 в структурных компонентах провизорного органа по мере прогрессирования ХПН. Наиболее активными продуцентами VEGF-1 являются децидуальные клетки базальной пластинки последа и синцитиотрофобласт терминальных ворсин. Значения индекса экспрессии VEGF-1 в децидуальных клетках и синцитиотрофобласте терминальных ворсин можно использовать в качестве дополнительного диагностического критерия стадии ХПН.

ЛИТЕРАТУРА

1. Акушерство: национальное руководство / под ред. Э.К. Айламазяна, В.И. Кулакова, В.Е. Радзинского, Г.М. Савельевой. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 1200 с.
2. Абрамченко В.В., Г.Л. Громыко, И.Н. Бойко Метаболическая терапия при беременности и в родах // Руководство для врачей. – СПб – М., 2009. – 160 с.
3. Кулаков В.И., Орджоникидзе Н.В., Тютюнник В.Л. Плацентарная недостаточность и инфекция – М., 2004. – 494 с.
4. Сидорова И.С., Макаров И.О. Течение и ведение беременности по триместрам. – М.:ООО «Медицинское информационное агентство», 2007. – 304 с.
5. Бурлев В.А, Зайдиева З.С., Тютюнник В.Л., Кравченко Н.Ф., Павлович С.В., Коноводова Е.Н. Роль факторов роста в развитии плацентарной недостаточности // Проблемы репродукции. – 1999. – № 6. – С. 7–12.
6. Huang Y.C., Chen X.H., Wang J., Li X.Q., Xie., Tang L., Deng L. Effects of hypoxia on human placental decidual basal-mesenchymal stem cells proliferation, apoptosis and VEGF expression // Sheng Li Xue Bao. – 2008. – Vol. 60. – P. 783–789.
7. Lyal F., Young A., Boswell F. Placental expression of vascular endothelial growth factor in placenta from pregnancies

В целях углубленного изучения механизмов формирования ХПН в дальнейшем планируется расширение спектра иммуногистохимического исследования последов.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШИХ ИССЛЕДОВАНИЙ. В целях уточнения механизмов формирования и морфологической диагностики стадий ХПН в дальнейшем планируется расширение спектра иммуногистохимического исследования последов – изучение экспрессии десмина и виментина в структурах ворсинчатого хориона и базальной пластинки, позволяющих определить степень зрелости сосудистого компонента последних.

complicated by preeclampsia and intrauterine growth restriction does not support placental hypoxia at delivery. // *Placenta*. – 1997. – Vol. 18. – № 4. – P. 269–276.

8. Ogura Y., Takakura N., Yoshida H., Nishikawa S. Essential role platelet-derived growth factor receptor Alpha in the development of the intraplacental yolk sac sinus of Duval in mouse placenta. // *Biol Reprod*. – 1998. – Vol. 58. – № 1. – P. 65–72.

9. Relf M., LeJeune S., Scott P.A.E. Expression of the angiogenic factors vascular endothelial cell growth factor, acidic and basic fibroblast growth factor, tumor growth factor Beta-1, platelet-derived endothelial cell growth factor, placenta growth factor, and pleiotrophin in human primary breast cancer and its relation to angiogenesis. // *Cancer Res*. – 1997. – Vol. 57. – № 5. – P. 963–969.

10. Schiessl B., Innes B.A., Bulmer J.N., Otun H.A., Chadwick T.J., Robson S.C., Lash G.E. Localization of angiogenic growth factors and their receptors in the human placental bed throughout normal human pregnancy // *Placenta*. – 2009. – Vol. 30. – № 1. – P. 79–87.

11. Jojovic M., Wolf F., Mangold U. Epidermal growth factor, vascular endothelial growth factor and progesterone promote placental development in rat whole-embryo culture. // *Anat Embryol (Berl)*. – 1998. – Vol. 198. – № 2. – P. 133–139.

Отримано 23.02.13