

УДК 618.346-002

## ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОГО БЕЗВОДНОГО ПРОМЕЖУТКА НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ ОКОЛОПЛОДНЫХ МЕМБРАН

Дятлова Л.И.

ГУЗ «Перинатальный центр Саратовской области», Саратов, e-mail: [larisady@mail.ru](mailto:larisady@mail.ru)

Изучили стереоульстраструктуру околоплодных оболочек нормальной беременности и при беременности, осложненной длительным безводным промежутком. Исследовали с помощью сканирующего электронного микроскопа «Hitachi S-450». Определено, что при длительном безводном промежутке стререоульстраструктура околоплодных оболочек имеет признаки воспаления, характерными признаками которого являются дистрофические, некробиологические процессы.

**Ключевые слова:** околоплодные мембраны, сканирующий электронный микроскоп

## AMNIOTIC MEMBRANE DURING PROLONGED ABSENCE OF AMNIOTIC FLUID

Dyatlova L.I.

Perinatal Center Caratovskoy region, Saratov, [larisady@mail.ru](mailto:larisady@mail.ru)

Studied stereoultrastrukturu amniotic membrane in normal pregnancy and in pregnancies complicated by prolonged lack of amniotic fluid. Examined with a scanning electron microscope «Hitachi S-450.» Determined that during prolonged dry interval stereoultrastruktura amniotic membrane has signs of inflammation, which is the characteristic signs of degenerative, nekrobiologicheskije processes.

**Keywords:** amniotic membrane, scanning electron microscopy

Околоплодные мембраны являются не только барьером между матерью и плодом, но и обладают многогранными функциями, обеспечивающими поддержание развитие плода [2]. Они выполняют трофическую, дыхательную, выделительную, защитную функции. Амниотический эпителий участвует в метаболизме околоплодных вод, поддерживая постоянное значение pH – 7,1 [6,7]. Установлено, что околоплодные мембраны участвуют в продукции простагландинов, хорионического гонадотропина, интерлейкина 4, имеющие значение для моторики матки [10]. И, наконец, установлено, что клетки амниона обладают плюрипотентными свойствами, что делают их весьма привлекательными источником для трансплантологии. Околоплодные мембраны состоят из амниона (со стороны плода) и гладкого хориона, непосредственно прилегающего к децидуальной оболочке. Общеизвестно, что гладкий хорион формируется из ворсинчатого хориона в результате редуцирования ворсинчатых образований. Он представляется из себя сетчатую структуру, представленную коллагеном III типа [9]. Амнион развивается из эктобластического пузырька, складками наружного и среднегозародышевых листков (эктодермы и мезенхимы). Амнион состоит из 3 трех слоев: эпителиального слоя, базальной мембраны и аваскулярного мезенхимального губчатого слоя. Толщина амниона не более 0,5 мм. Внутренний слой, смежный с амниотической жидкостью, представлен кубическим эпителием плотно фикси-

рованным на базальной мембране, которая в свою очередь прочно соединена с губчатым слоем, состоящего из коллагена I, II и V типов [4]. Апикальная поверхность амниотического эпителия снабжена щеточной каймой. Эти клетки имеют большое ядро с ядрышком и множество органелл, пинцитозных пузырьков. Базальная мембран состоит в основном из коллагеновых волокон, богата содержанием гепарансульфатов, служит препятствием для проникновения крупных молекул из амниотической жидкости и обеспечивает поддержание целостности амниотической мембраны. Базальная мембрана экспрессирует биологически активные вещества, в том числе ламинин, который способствует выживанию клеток, их дифференцировке и поддерживает фенотип клеток [3]. Наружный слой амниотической мембраны состоит из мезенхимальных фибробластов. Этот слой содержит большое количество протеогликанов и гликопротеинов, обеспечивая эластичность мембраны. На гистологических препаратах выглядит как губчатая ткань, поэтому это слой часто называют губчатым.

Губчатый слой тесно связан с тканью гладкого хориона, но за счет большого содержания муцина амнион легко отделяется от хориона [8]. В настоящее время к изучению структуры плодных оболочек проявляется повышенный интерес, связанный с применением плодных мембран в трансплантологии, онкологии, а также с возможностью уменьшения перинатальных потерь в результате преждевременного

излития околоплодных вод в сроках гестации 22-34 недели, когда морфофункциональная зрелость плода недостаточна для существования внеутробно. В связи с чем изучение морфологии оболочек с применением современных методов исследования в норме и при патологии приобретают особую значимость. Нами впервые проведено стереоультраскопическое исследование двух составляющих околоплодных мембран (гладкого хориона и амниона) в норме и при длительном безводном промежутке.

Целью настоящего исследования явилось изучение стереоультраструктуры плодных оболочек при нормальной беременности и беременности, осложнившейся дородовым излитием околоплодных вод в 26-32 недели гестации.

#### Материалы и методы исследования

Материалом для исследования послужили плодные оболочки (амнион и гладкий хорион) при 26-32 недельной беременности, осложнившейся длительным безводным промежутком, от 7 до 14 суток (10 наблюдений). В качестве контроля были обследованы оболочки при 40-недельной беременности (10 наблюдений).

Методы. Околоплодные оболочки были разделены на гладкий хорион и амнион. Затем кусочки оболочек размером 1-4 мм фиксировали в формальдегиде с глутаральдегидом по методу Карновского. Образцы

исследовали в сканирующем электронном микроскопе «Hitachi S-450» при увеличении в 130 и 900 раз на базе лаборатории электронной микроскопии (ФБУН ГНЦ ПМБ). (Руководитель лаборатории доктор биологических наук В.Н. Герасимов).

#### Результаты исследования и их обсуждение

В норме амниотическая оболочка представляет собой прозрачную, эластичную мембрану, прочную на разрыв, толщиной 0,2-0,5 мм. В группе контроля при увеличении в 130 раз (снимок А) плодная поверхность амниотической оболочки выглядит ровной, однородной с небольшими складками. На клетках амниотического эпителия обнаружены рецепторы к окситоцину, а также маркеры к гликопротеину СА125 [5,14]. Ogawa A. Et al. (2003) сообщили о выделении эритропоэтина из амниальных клеток. Предполагается, что эритропоэтин вырабатывается в этих клетках под воздействием прогестерона. Местами просматриваются дефекты ткани, представляющие щели между клетками (снимок А). При доношенной беременности, по мнению А.С. Ростовщикова (1997), наличие межклеточных щелей можно расценивать, как вариант нормы. Амниотический эпителий густо покрыт щеточками.

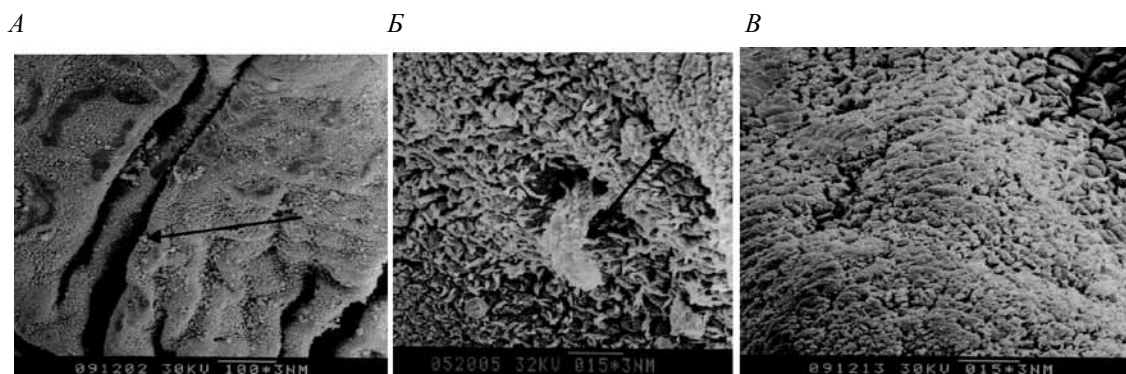


Рис. 1. А – Величина маркера 100 мкм; Б – Величина маркера 15 мкм; В – величина маркера 15 мкм. Электронно-микроскопическое изображение в сканирующем электронном микроскопе Hitachi S-450 образца, амнион, контрольная группа. Увеличение на снимке А×130. Межклеточные дефекты указаны стрелкой. Увеличение на снимке Б,×900. Восстановление межклеточных дефектов указаны стрелой. Увеличение на снимке В×900. Амнион, обращенный к хориальной пластинке

При увеличении в 900 раз плодовая часть амниона выглядит как всхолмленная поверхность. Клетки плотно прилегают к друг другу. В местах незначительных дефектов контакт между клетками восстановлен за счет отростков клеток (снимок Б).

Вся поверхность амниотического эпителия покрыта щеточками, которые имеют звездчатую форму. На некоторых участках щеточки сглажены, напоминают рыбу чешую. Поверхность, обращенная к хориальной пластинке, представляет собой вол-

нистую поверхность, покрытую глыбками муцина (снимок В).

В основной группе амниотическая оболочка представляла собой полупрозрачную, достаточно хрупкую мембрану, толщиной 0,5 мм. При незначительном увеличении в 130 раз плодовая часть амниона выглядит достаточно однородной, с незначительной

складчатостью, с характерными деструктивными изменениями. Так, межклеточные пространства трудно различимы, отсутствует щеточный покров (снимок Г). Поверхность амниотической оболочки, обращенной к хориальной пластинке, покрыта уплотненными участками муцина, напоминает шагреневую кожу (снимок Д).

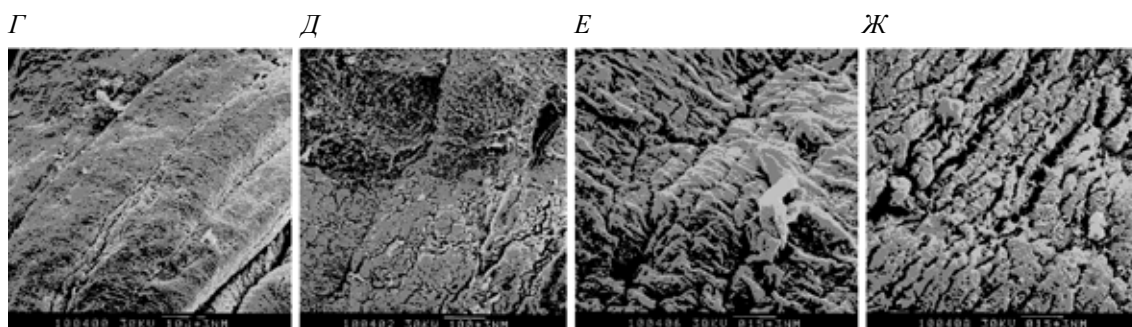


Рис. 2. Г – маркер 100 мкм; Д – маркер 100 мкм; Е – маркер 15 мкм; Ж – маркер 15 мкм. Электронно-микроскопическое изображение в сканирующем электронном микроскопе Hitachi S-450 образца Оболочка амниотическая, обращенная к плоду (снимок Г), к хориальной пластинке (снимок Д), основная группа. Увеличение на снимках  $\times 130$  (Г, Д). Оболочка амниотическая, обращенная к плоду (снимок Е), к хориальной пластинке (снимок Ж), основная группа. Увеличение на снимках  $\times 900$  (Е, Ж)

В основной группе при увеличении в 900 раз (снимок Е) плодовая поверхность амниотической оболочки покрыта многочисленными складкам. Клетки с явлениями некробиоза, амниотические щеточки полностью разрушены. На некоторых участках эпителий покрыт фибриновыми нитями. Поверхность, обращенная к гладкому хориону (снимок Ж) демонстрирует разрушение межклеточных соединений. Размеры межклеточных дефектов достигают 5 мкм. Полученные данные согласуются с результатами исследований ультраструктуры амниотического эпителия Кузнецовым А.В., 2008г, который установил при нарушенном маточном и плацентарном кровотоке у крыс изменения в ультраструктуре эпителиоцитов амниона в виде альтерации структур плодных оболочек, коагуляции цитоплазмы, десквамации амниотического эпителия [1]. В цитоплазме клеток преобладали расширенные дегранулированные цистерны эндоплазматического ретикулума и митохондрии с деструкцией внутренних крист. Цитоплазма отдельных

клеток содержала гомогенный бесструктурный субстрат, который, по его мнению, являлся результатом полной деструкции органелл. Щеточная кайма эпителиоцитов с уменьшенным количеством укороченных и утолщенных микроворсинок.

Таким образом, стереоультраструктура плодовой поверхности амниона в группе с длительным безводным промежутком характерна для париетального амнионита.

Проведенные исследования второй оболочки – гладкого хориона, в основной и контрольной группе показали, что в норме данная мембрана несколько толще амниотической оболочки, менее прозрачна и достаточно эластичная.

В контрольной группе часть гладкого хориона, прилегающего к децидуальной оболочке, представляет собой однородную поверхность с всхолмлениями, с отсутствием межклеточных щелей (снимок З). Место соединения хориальной пластинки и амниона однообразны, а именно – это губчатая ткань с всхолмлениями (снимок И).

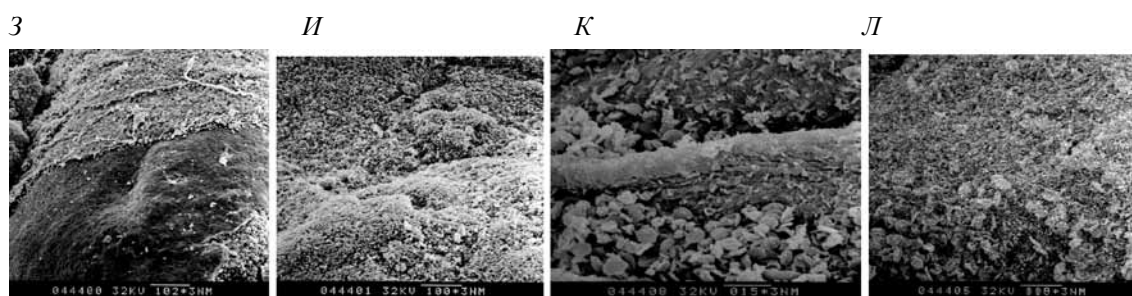


Рис. 3. З – маркер 102 мкм; И – маркер 100 мкм; К – маркер 15 мкм; Л – маркер 15 мкм. Электронно-микроскопическое изображение в сканирующем электронном микроскопе Hitachi S-450 образца Оболочка хориальная оболочка, обращенная к эндометрию (снимок З), к амниону (снимок И), контрольная группа. Увеличение на снимках  $\times 130$  (З,И). Оболочка хориальная оболочка, обращенная к эндометрию (снимок К), к амниону (снимок Л), контрольная группа. Увеличение на снимках  $\times 900$  (К, Л). Стрелкой указан фибриноид

При увеличении в 900 раз поверхность гладкого хориона, обращенная к децидуальной оболочке, представлена бугристой поверхностью, на которой визуализируются щеточная кайма по форме напоминающая морские звезды (снимок К). Аналогичная форма щеточек была обнаружена нами на децидуальной оболочке. Как указывалось, щеточная кайма является продуцентом целого ряда биологически активных субстанций. Однако, можно предположить о значимости ее в обеспечении контакта между различными оболочками.

На снимках присутствуют участки фибриноида (снимок Л). Особенностью дан-

ной оболочки является презентация на ней клеток материнской крови: эритроцитов, в незначительном количестве лимфоцитов, единичных моноцитов, практически отсутствуют тромбоциты. Клетки крови лежат свободно, отсутствуют свидетельства сладжирования (снимок Л).

Место контакта между амнионом и гладким хорионом представлено губчатой тканью.

В основной группе при визуальной осмотре гладкий хорион имеет белесоватый цвет, поверхность шероховатая. Структура оболочки хрупкая, легко разрывается.

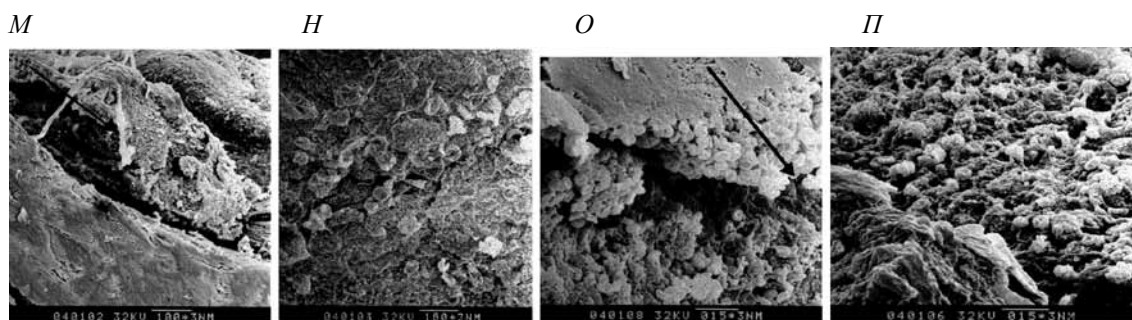


Рис. 4. М – маркера 100 мкм; Н – маркер 100 мкм; О – маркер 15 мкм; П – маркер 15 мкм. Электронно-микроскопическое изображение в сканирующем электронном микроскопе Hitachi S-450 образца Оболочка хориальная оболочка, обращенная к эндометрию (снимок М), к амниону (снимок Н), основная группа. Увеличение на снимках  $\times 130$  (М,Н). Стрелкой указаны нити фибрина. Оболочка хориальная оболочка, обращенная к эндометрию (снимок О), к амниону (снимок П), основная группа. Увеличение на снимках  $\times 900$  (О,П). Стрелкой указаны сладжированные эритроциты

Стереоультраскопическое изображение гладкого хориона, обращенного к эндометрию, в группе с длительным безводным промежутком уже при увеличении в 130 раз представляет характерную картину хорио-

нита. Гладкий хорион с нарушенными клеточными взаимосвязями. Ширина дефектов достигает 200 мкм. Ткани лежат отдельными островками с плоской наружной и шероховатой внутренней поверхностью, покры-

той нитями фибрина и деформированными эритроцитами (снимки М, Н).

При увеличении в 900 раз часть гладкого хориона, обращенная к эндометрию, представляет собой гладкое плато с широкими расщелинами. Полностью отсутствует щеточная кайма. По краю разломов фиксированы сладжированные эритроциты (снимок О). Внутренний губчатый слой сглажен, структура пористая (снимок П).

### Выводы

Таким образом, плодная поверхность амниотического эпителия представляет из себя кубический эпителий, покрытый микрощеточками звездчатой формы. Даже в норме встречаются межклеточные дефекты амниотического эпителия. Гладкий хорион является соединительнотканной пластинкой, который контактирует с децидуальной тканью посредством щеточной каймы. При длительном безводном промежутке стереоультраструктура оболочек характеризуется дегенеративными изменениями как в амнионе, так и в гладком хорионе, которые определяются деструкцией клеток, исчезновением щеточной каймы, выпадением нитей фибрина, сладжированием эритроцитов материнской крови.

### Список литературы

1. Кузнецов Р.А. Патоморфология, профилактика и коррекция плацентарной недостаточности у крыс: автореф. ... дисс. канд. мед. наук. – М., 2008. – 25 с.
2. Руководство к практическим занятиям по акушерству: Учебное пособие для вузов / под ред. В.Е. Радзинского – 576 с.
3. Akashi T., Miyagi T., Ando N, Suzuki Y., Nemoto T., Eishi Y., Nakamura K., Shirasawa T., Osa N., Tanaka N., Burgeson R Synthesis of basement membrane by gastrointestinal cancer cell lines // *Jpathol*-1999. – №187-P.223 – 228.
4. Baradaran-Rafii A, Arjmand B, Javadi M. Amniotic membrane transplantation // *Iran J Ophthal Res*-2007. – №2. – P. 58–75.
5. Benedetto M., De Cicco F., Rossiello F., Nicosia A., Lupi G., Dell'Acqua S (1990) Oxytocin receptor in human fetal membranes at term and during labor. // *J Steroid Biochem*. – 1990. – № 35. – P.205–208.
6. Crescimanno C Immunocytochemical patterns of carbonic anhydrase isoenzymes in human placenta, cord and membranes // *Placenta*. – 1993. – № 14-A11.
7. Muhlhauser J., Crescimanno C., Rajaniemi H., Parkkila S., Milovanov A., Castellucci M., Kaufmann P. (1994) Immunohistochemistry of carbonic anhydrase in human placenta and fetal membranes // *Histochemistry*. – 1994. -№101. – P.91–98.
8. Niknejad H., Peirovi H., Jorjani M., Ahmadiani A., Ghanavi J., Seifalian A. Properties of the amniotic membrane for potential use in tissue engineering // *Eur Cell Mater*. – 2008. – № 15. – P.88–99.
9. Parry S., Strauss J. Premature rupture of the fetal membranes // *N Engl J Med*-198-№ 338-P.663–670
10. Okazaki T., Casey M., Okita J., MacDonald P., Johnston J. Initiation of human parturition. XII. Biosynthesis and metabolism of prostaglandins in human fetal membranes and uterine deciduas // *Am J Obstet Gynecol*. – 1981. – № 139. – P. 373–381.