

УДК 618

ЦИТОКИНО-ЭНДОКРИННЫЙ ПРОФИЛЬ ОРГАНИЗМА ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ И ПРЕРЫВАЮЩЕЙСЯ БЕРЕМЕННОСТИ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПЛАЦЕНТЫ

Юлдашев А.Ю., Комилова М.С.

Ташкентский Государственный стоматологический институт, Бухарский Государственный медицинский институт по имени Абу Али ибн Сины, Бухара, e-mail: komilova1985@mail.ru

Проведено исследование в концентрации фактора роста плаценты (ФРП) в сыворотке крови и гомогенате плаценты при физиологической и прерывавшейся беременности в I триместре. Осуществлен корреляционный анализ их взаимосвязанных изменений, а также установлено роль значения ФРП при прерывающейся беременности.

Ключевые слова: цитокин, беременность, плацента, фактор роста плаценты (ФРП)

CYTOKINE-ENDOCRINE BODY PROFILE IN THE PHYSIOLOGICAL AND INTERRUPTED PREGNANCY AND PLACENTA MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS

Yuldashev A.Y., Komilova M.S.

Tashkent State Stomatological Institute, Bukhara State Medical Institute after Abu Ali Ibn Sino, Bukhara, e-mail: komilova1985@mail.ru

The study of concentration of the placenta growth factor was performed in the blood serum and placenta homogenate in the physiological and interrupted pregnancy in the first trimester. The correlational analysis of their interrelated changes was carried out as well as the role of the placenta growth factor in the interrupted pregnancy has been established.

Keywords: cytokine, pregnancy, placenta, placenta growth factor (PGF)

Согласно многочисленным исследованиям, преждевременное прерывание беременности на протяжении последних лет не имеет тенденции к снижению и составляет 10–25% от всех беременностей [1, 2, 12]. Женщины с самопроизвольным прерыванием беременности составляют группу высокого риска по развитию осложненного течения последующей беременности и повторным репродуктивным потерям [2, 10, 12]. Современные представления о генезе невынашивания беременности основываются на мультифакторной природе данной патологии, в основе которой лежат нарушения процессов плацентации, дисбаланс экспрессии и факторов роста, изменения активности рецепторов клеточных мембран к гормонам репродуктивной системы [3, 4, 6, 10, 12, 13].

Несмотря на многочисленность проводимых исследований, этиология и патогенез рассматриваемой проблемы сложны. В связи с этим целью настоящего исследования является изучение при физиологической и неразвивающейся беременности цитокинового и эндокринного профиля, морфологических особенностей плаценты в конце I триместра.

Материалы и методы исследования

Исследованы 2 гр: 1 – с физиологически протекающей беременностью ($n = 30$; средний возраст $26,4 \pm 1,3$ лет) и 2 – прерывающейся беременностью

($n = 20$); средний возраст $25,3 \pm 1,1$ лет). Гестационный срок в обеих группах, рассчитанный по последней беременности, составил 12–13 недель. Выбор данного срока обусловлен завершением к этому времени инвазии трофобласта и раннего ангиогенеза плаценты, началом функционирования маточно-плацентарного кровообращения. Неразвивающаяся беременность верифицирована по данным ультразвукового исследования. Изучение соматического статуса по II гр. обследуемых показало, что они имеют отягощенный соматический (ЖДА, заболевания ЛОР-органов, ЖКТ, гипертоническая и варикозная болезнь), (TORCH микст гинекологических инфекций – 23, нормоценоз – 7 случаев) и акушерский статус (хроническое воспаление органов малого таза – 20).

Гормональный фон в I и II гр. установлен на основании определения содержания в сыворотке венозной крови 17β – эл., Пг, Т и β – ХГЧ. Уровень фактора роста плаценты ФРП (пг/мл) определялся в сыворотке крови и надосадочной жидкости гомогената плаценты. При искусственном или естественном прерывании беременности биоптат плаценты помещался в стерильную пробирку. В последующем гомогенизировался в среде выделения (0,05М Трис-НСI буфер, состоящий из 0,25М сахарозы и 0,05М КС1). После гомогенат центрифугировали в течении 10 мин. при 3000 об/мин.

Надосадочную жидкость в последующем центрифугировали повторно при 6000 об/мин в течение 20 мин. В надосадочной жидкости определяли ФРП. Чувствительность 15 пг/мм.

ФРП, 17β – эл, Пг, Т и – ХГЧ определялся иммуноферментным методом на аппарате АТ-858 (LTD, Китай) с использованием стандартных коммерческих наборов ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск), фир-

мы «Нинто» GmbH (Германия) и фирмы «R & D Systems Quntikine» (США).

Морфологическое исследование ворсин хориона и децидуальной оболочки матки проводилось после отделения в изотоническом растворе NaCl сгустков крови и частей эмбриона. Забор ворсин хориона первичной плаценты производился из 3 участков в 1,25% растворе глутарового альдегида с дофиксацией в 1% растворе Осъмиевой кислоты на фосфатном буфере (рН 7,4). После обезвоживания в спиртах возрастающей концентрации и ацетоне, кусочки заливали в аралдит. Полутонкие срезы полученные на ультрамикротоме LKB-4800, окрашены основным фуксином и метиленовым синим; парафиновые – гематоксилином и эозином.

Морфологические исследования осуществлены на полутонких срезах с помощью полуавтоматического анализатора изображений «Интеграл-2М» (Россия). Количественные результаты подвергнуты статистической обработке с помощью пакета прикладных программ на компьютере Pentium-4 с определением средней арифметической (M), ее ошибки (m), относительных величин (%). Согласно критерий Стьюдента, достоверными значения считались при $P < 0,05$ [8].

Результаты исследования и их обсуждение

В сыворотке крови беременных женщин I и II гр. ФРП составляет $185 \pm 9,2$ и $26,9 \pm 1,8$ пг/мл соответственно, т.е. при физиологической беременности он в 5 раз в среднем больше, чем у обследуемых с прерывающейся беременностью. В надосадочной жидкости хориальной ткани он равен 777 ± 48 (I гр.) и 204 ± 15 пк/мл, т.е. значительно больше, чем в сыворотке крови. Однако тенденция та же: при прерывающейся беременности ФРП в 3–5 раза меньше в среднем.

Корреляционный анализ концентрации ФРП в сыворотке крови и плаценте выявил прямую сильную связь как при физиологической ($r = 0,81$), так и прерывающейся ($r = 0,70$) беременности. При определении концентрации ФРП в сыворотке крови и надосадочной жидкости плаценты в каждой из групп приходим к заключению, что его значения отличаются в 4,20 (I гр.) и 7,61 (II гр.) раз. На этом основании полагаем, что при прерывающейся беременности снижается как экспрессия его структурами слизистой оболочки матки и трофобласта, так и всасывание в системный кровоток.

При сравнительном исследовании концентрации гормонов установлено, что во II гр. концентрация прогестерона, тестостерона в 1,5 раза больше, чем в I гр. Корреляционный анализ концентраций ФРП и исследуемых гормонов в сыворотке крови выявил достоверную прямую связь в обеих группах, т.е. уровню экспрессии ФРП соответствует гормональный статус организма; низкие значения этого взаимодействия

должны вызывать отставание в развитии взаимодействующих структур децидуальной и хориальной ткани.

Для подтверждения данного предположения нами в сравниваемых группах беременных морфологически и морфометрически изучены ворсины и децидуальная ткань матки. При физиологической беременности в конце I триместра материнская поверхность формирующейся плаценты состоит из развивающихся вторичных и третичных ворсин, выстланных синцитиотрофобластом (СТ) и цитотрофобластом (ЦТ). В терминальных ворсинах ЦТ часто образует скопления ядер (почки). В тех участках, где он отсутствует, СТ истончен, на поверхности имеет тонкую полоску щеточной каймы. Базальная мембрана под ней истончена, гомогенна. В строении таких ворсин непосредственно под СТ часто определяется капилляр с округлым, овальным просветом, выстланный уплощенным эпителием.

Анализ частоты распределения терминальных ворсин по классам свидетельствует о том, что основную их массу (75%) составляют с площадью от 1000 до 5000 мкм². Остальные короткие, не содержат кровеносных капилляров, выстланы СТ и ЦТ.

Во II группе обследуемых беременных женщин терминальных ворсин меньше, гетерогенность больше; они разделены более значительными промежутками между собой. Если половина из них имеет площадь 0–3000 мкм², то другая 3–7000 мкм², т.е. около половины терминальных ворсин незрелые, имеют большой диаметр, без капилляров или капилляр занимает центральное положение.

Усредненная площадь терминальной ворсины и их число на единицу площади формирующейся плаценты при физиологической и прерывающейся беременности составляют 3730 ± 360 , $2,72 \pm 0,21$ и 2520 ± 239 мкм² и $1,62 \pm 0,29$ соответственно ($P < 0,01$). В строении ворсин женщин II группы отмечаются отек, кистозные полости, изредка участки формирования капилляров и эритробластического кроветворения.

Корреляционный анализ концентрации ФРП в сыворотке крови и количество терминальных ворсин в сравниваемых группах выявляет более высокую прямую ($r = 0,77$) зависимость при физиологическом течении беременности, чем при прерывающейся II гр. ($r = 0,70$).

В конце I триместра физиологической беременности децидуальная ткань плацентарного ложа состоит из разветвлений маточных желез, выстланных железистым эпителием. Вокруг расширенных спиральных артерий выявляются равномерно рас-

сеянные малые и крупные гранулярные лимфоциты. На границе с инвазирующей плацентой децидуальная ткань выстлана узкой варьирующей по толщине полоской фибриноида.

Децидуальные клетки по направлению к базальной пластинке в полости лакуны, дифференцируясь, укрупняются и располагаются в виде столбиков, где нами условно выделены 3 зоны: 1 – прилежащая к образующемуся фибриноиду; 2 – промежуточная; 3 – уровень базальной пластинки.

который, разрушая спиральные артерии, внедряется в их просвет, замещает эндотелий. У женщин 2 группы островки интерстициального трофобласта определяются относительно реже. Их внедрение в просвет спиралевидных артерий происходит вяло, без активного замещения эндотелия.

Заключение

Как свидетельствуют данные литературы [5, 6, 7, 9, 11], важнейшим этапом физиологического течения беременности

Объем цитоплазмы и ядра, ядерно-цитоплазматическое отношение (ЯЦО) децидуальных клеток через 10–12 недель физиологической или прерывающейся беременности ($M \pm m$, $\mu\text{км}^3$)

Структура клетки, ЯЦО	Зоны	беременность	
		I группа n = 20	II группа n = 22
цитоплазма	I	1900 ± 20 \square	1280 ± 45* \square
	II	1140 ± 125	710 ± 82*
	III	1129 ± 123	604 ± 57*
ядро	I	102 ± 27 \square	98,5 ± 10,4* \square
	II	108 ± 11	70,4 ± 8,6*
	III	102 ± 12	63,2 ± 8,2*
ЯЦО	I	0,085	0,077
	II	0,095	0,100
	III	0,091	0,105

Примечание. * – значения достоверности ($P < 0,05$) при сравнении показателей I и II групп беременных; \square – значения достоверности ($P < 0,05$) при сравнении показателей контрольной группы.

Определение площади цитоплазмы и ядра децидуальных клеток в каждой из зон и исследуемых группах беременных женщин выявляет существенные различия (таблица). При физиологической беременности объем цитоплазмы и ядра увеличиваются от I к III зоне на 170 и 159% в среднем соответственно.

Ядерно-цитоплазматическое отношение (ЯЦО) уменьшается от 0,091 до 0,085. У обследуемых с прерывающейся беременностью децидуальные клетки не располагаются упорядоченно, в виде столбиков. Они и их ядра значительно меньше, чем в слизистой оболочке матки женщин I гр. Площадь цитоплазмы в I и III зонах различается в среднем на 147 и 180%, ядра – 170 и 160% соответственно. ЯЦО по мере дифференцирования децидуальных клеток от уровня базальной пластинки к лакунам и терминальным ворсинкам уменьшается от 0,105 до 0,077.

В слизистой оболочке матки женщин I группы между столбиками интенсивно увеличивающихся децидуальных клеток различаются пучки коллагеновых волокон и группы интерстициального трофобласта,

и развития плода является морфогенез плацентарной области матки, васкулогенез и ангиогенез при формировании плаценты, ее терминальных ворсин. Ключевыми факторами, регулирующими эти процессы, являются сосудисто-эндотелиальный фактор роста (VEGF) и фактор роста плаценты (PLGF). Если VEGF экрессируется трофобластом, стромальными макрофатами образующихся ворсин [14], то наблюдается формирование разветвленной артериальной и капиллярной сети в мезенхимальных и незрелых промежуточных ворсин.

Иммуногистохимическое выявление VEGF в синцитотрофобласте терминальных ворсин, по мнению А.П. Милованова [9], свидетельствует о направленном его транспорте к структуре материнского ложа и крови образующихся лакун. Согласно исследованиям М.М. Зиганшиной с соавт., PLGF в динамике беременности и особенно I триместре нарастает однонаправленно с VEGF. Действуя синергично с ним, способен высвободить его из комплекса VEGF/VEGFR 1 для активации VEGF2. PLGF не только способствует ангио- и васкулогенезу плаценты, но и как отмечают многочис-

ленные исследователи [3, 4, 5, 6, 7, 11, 14], паракринно регулирует морфогенез материнского ложа, децидуальный ангиогенез и инвазию интерстициального трофобласта в спиральные и радиальные артерии эндометрия и миометрия.

Если концентрация PLGF, как показано нами, а также другими исследователями, в сыворотке крови и хориальной ткани в несколько раз меньше, чем при физиологической беременности, то наблюдается задержка морфогенеза плацентарного ложа, децидуализация эндометрия, отставания развития плаценты, формирование ворсин, сосудов в них. Нередко это приводит к прерыванию беременности на ранних сроках.

На основании комплексного исследования нами сделаны следующие выводы:

1. Фактор роста плаценты (PLGF) у женщин с прерывающейся беременностью в 11–12 недель в среднем в 6,5 и 3,5 раза меньше в сыворотке крови и хориальной ткани соответственно, чем при физиологическом течении беременности.

2. Высокая концентрация PLGF в сыворотке крови при физиологической беременности и относительно низкая – при прерывающейся беременности характеризует морфогенетические процессы в области материнского ложа, васкуло-ангиогенез в плаценте, исход беременности в конце I триместра беременности.

3. Корреляционный анализ концентрации PLGF в сыворотке крови и морфологических процессов в эндометрии и терминальных ворсинах плаценты в сравниваемых группах беременных в конце I триместра устанавливает прямую зависимость между ними и позволяет прогнозировать течение беременности.

Список литературы

1. Айламазян Э.К., Павлов О.В., Сельков С.А. «Роль иммунной системы и фетоплацентарного комплекса в меха-

низмах преждевременного прерывания беременности» Акушерство и гинекология. – 2004 – № 2. – С. 9–11.

2. Асатова М.Ю., Гафарова Д.Х., Ешимбетова Г.З. «Невынашивание беременности» Пособие для врачей. – Ташкент, 2005 – 56с.

3. Бурляев В.А., Волобуев А.И., Сидельникова В.М., Оганесян А.Ж. «Взаимосвязи между маточно-плацентарным кровотоком и показателями гормональной и метаболической активности у беременных с угрозой прерывания» Вестник АМН СССР – 1990. – № 5. – С. 10–14.

4. Бурляев В.А. «Инверсия ангиогенеза у беременных» Проблемы репродукции. – 2013. – № 3. – С. 54–62.

5. Дубова Е.А., Павлов К.А., Пяпин В.М. и др. «Фактор роста эндотелия сосудов и его рецепторы в ворсинах плаценты беременных с преэклампсией» Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2012. – Т. 154, № 12. – С. 761–765.

6. Зиганшина М.М., Кречетова Л.В., Ванько Л.В. и др. «Про и антиангиогенные факторы в патогенезе ранних потерь беременности» Акушерство и гинекология. – 2012. – № 4/1. – С. 4–9.

7. Зиганшина М.М., Кречетова Л.В., Ванько Л.В. и др. «Динамика цитокинового профиля в ранние сроки физиологической беременности и при привычном невынашивании в анамнезе» Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2012. – Т. 154, № 9. – С. 371–374.

8. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 304 с.

9. Милованов А.П., Сидорова И.С., Солоницин А.Н., Боровкова Е.И. «Имуногистохимическая оценка распределения фактора риска эндотелия сосудов в плаценте, плацентарном ложе матки при нормальной беременности и у женщин с преэклампсией» архив патологии. – 2008. – № 3. – С. 12–14.

10. Орлов А.В., Друккер Н.А., Крункер И.И. «Роль факторов роста в патогенезе неразвивающейся беременности» Российский вестник – Акушерство-гинекология. – 2010. – № 3. – С. 7–9.

11. Павлов К.А., Дубова Е.А., Щеголев А.И. «Фетоплацентарный ангиогенез при нормальной беременности: роль плацентарного фактора роста и антипоэтинов» Акушерство и гинекология. – 2010. – № 6. – С. 10–13.

12. Сидельникова В.М., Сухих Г.Т. «Невынашивание беременности» М.: Медицина, 2011 – 538 с.

13. Stigler P., Kasfen M.A. Angiogenic growth and compromised pregnancies. J. Cell Biochem. Suppl. – 2009. – Vol. 9, № 3. – P. 30–31.

14. Ali K.L., Burton G.L., Khalid M.E. etc. «Concentration of free vascularendoterial growth factor in the maternal and fetal circulations during pregnancy across sectional study». J. Maternal-Fetal Neonatal Vtd. – 2010. – Vol. 23, № 10. – P. 1244–1248.