

УДК 618.3-06:[618.36-091.8-097:616.8-009.24-036.4]-056:618.177-089.888.11

САВЧЕНКО С.Є., ДЯДИК О.О., КОЛОМІЙЧЕНКО Т.В., РОГАВА І.В.

Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, м.Київ

**МОРФОЛОГІЧНІ ТА ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ОЗНАКИ ПЛАЦЕНТАРНИХ
ПОРУШЕНЬ У ЖІНОК З ПРЕЕКЛАМПСІЄЮ
ПРИ ВАГІТНОСТІ ПІСЛЯ ДРТ**

Вагітність, що настала в результаті застосування ДРТ, відноситься до категорії високого ризику прееклампсії. Етіологія прееклампсії недостатньо з'ясована. Метою дослідження стало вивчення морфологічних та імуногістохімічних ознак плацентарних порушень у жінок з прееклампсією на тлі вагітності після ДРТ. Матеріали та методи дослідження. Проведено патоморфологічне та імуногістохімічне дослідження 20 плацент жінок основної групи, вагітність яких настала після застосування ДРТ: 10 плацент жінок з прееклампсією та 10 плацент – без прееклампсії, 10 плацент здорових жінок зі спонтанною фізіологічною вагітністю (контрольна група). Застосовували моноклональні антитіла до фактору CD31+, VEGF та фактору фон Віллебранда. Результати дослідження. Для жінок з прееклампсією характерні виражені явища дегенеративних змін у тканині оболонки посліду та тканині плаценти. Спостерігалися випадки з помірно запальною інфільтрацією в плацентарних оболонках. Характерними були прояви вираженого субтотального фібриноідного некрозу ворсин з вираженими дегенеративно-склеротичними змінами на тлі порушень ліпідного обміну, явища гіперплазії синцитіотрофобласту з формуванням вузликів та проявами порушення реології крові. На плодовій поверхні оболонки відмічається нашарування фібрину з домішками лімфогістіоцитарної запальної інфільтрації, у просвітах судин - пристінкове утворення фібринових тромбів з явищами еритролімфостазів. У більшості (70 %) плацент відмічено крововиливи, розташовані переважно навколо судин. При імуногістохімічному дослідженні з моноклональними антитілами до CD31+ відмічалось виражене зниження експресії клітинами ендотелію після ДРТ з прееклампсією відносно високого рівня експресії в при фізіологічній вагітності. Високий та підвищений рівень експресії фактору фон Віллебранду після ДРТ відповідає вираженості склеротичних та тромботичних змін тканини посліду. Виявлено високий рівень експресії VEGF при прееклампсії у порівнянні з незначною експресією при фізіологічній вагітності. Висновки. У плаценті жінок з прееклампсією імуногістохімічні дослідження виявили виражені зміни, що вказують на наявність ендотеліальної дисфункції, склеротичні та тромботичні зміни, нестабільність судинної стінки. Як патоморфологічні, так і імуногістохімічні зміни в плаценті були більш виражені при ранньому розвитку прееклампсії, що відповідає сучасним поглядам про плацентарне походження ранньої прееклампсії та неплацентарне – пізньої.

Ключові слова: вагітність, допоміжні репродуктивні технології, прееклампсія, плацента, імуногістохімічні дослідження

Значимість проблеми акушерських і перинальних ускладнень вагітності, що настала в результаті застосування допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ) зростає, що обумовлено, з одного боку, зростаючою частотою безпліддя та широким поширенням ДРТ, а, з іншого, важливістю винести таку бажану вагітність і зберегти при цьому здоров'я жінки та майбутньої дитини. За даними різних авторів, вагітність, що наступила в результаті застосування ДРТ, відноситься до категорії високого ризику і відрізняється підвищеною частотою мимовільного переривання та акушерських ускладнень, зокрема плацентарної дисфункції та прееклампсії [1, 2].

Багатьма дослідженнями показаний підвищений ризик саме виникнення прееклампсії після ДРТ [3-5].

Незважаючи на очевидні досягнення в розробці нових методів діагностики та лікування прееклампсії (ПЕ) і еклампсія залишаються найчастішими і найтяжчими ускладненнями гестаційного періоду [6].

З патофізіологічних позицій ПЕ (гестоз) - це синдром поліорганної функціональної недостатності, в основі якого лежить ендотеліальна дисфункція з розвитком периферичного спазму судин, який за типом хибного кола на певному етапі розвитку перетворюється на генералізований спазм, що реалізується у перфузійно-інфузійну недостатність плаценти [7].

Етіологія преєкламсії недостатньо з'ясована. Визначення ПЕ як хвороби адаптації відповідає загальним уявленням і дозволяє певні аспекти захворювання. Однак єдиної теорії, що дає цілісну картину патогенезу і задовольняє запитам практики, і досі немає. Більше 30 гіпотез намагалися пояснити причини і механізми розвитку гестозу, але всі вони висвітлюють окремі ланки складного процесу.

Багато дослідників вважає, що преєкламсія це результат патологічних імунних та гормональних реакцій, які прогресують протягом гестації, відбувається неповне ремоделювання судин матки, розвивається ендотеліальна дисфункція. Ендотеліальна дисфункція може включати розпад ендотеліального моношару та втрату судинної цілісності, що клінічно проявляється протеїнурією [7].

При дисфункції ендотелію відбувається прискорене злуццювання ендотелію капілярів, послаблення міжклітинних з'єднань, порушення синтезу білків, а також експресії і утворення глікопротеїдів адгезії на ендотеліоцитах (CD-31) [8]. Фактор адгезії тромбоцитів до ендотелію CD-31, PECAM, EndoCAM) – адгезивна молекула, яка конститутивно експресується на усіх клітинах судин і є надійним імуногістохімічним маркером кровеносних судин, особливо у вогнищах ангіогенезу, що опосередковує цілісність ендотелію та інші функції, включаючи проникність судин, регуляцію біодоступності оксиду азоту (NO) і ангіогенез. Наприклад, миші з нокаутом CD31 мають підвищену проникність судин [9].

Завдяки своєму унікальному розповсюдженню на тромбоцити, лейкоцити і ендотеліальні клітини, PECAM-1 одночасно приймає участь у процесах тромбозу і запалення. Зростає розуміння того, що ці два патофізіологічні процеси нерозривно і механічно пов'язані між собою. PECAM-1, завдяки своїй здатності інгібувати активацію тромбоцитів, пригнічує синтез цитокінів, стимулює продукцію судинною стінкою простагліцину і підтримує цілісність з'єднань ендотеліальних клітинних клітин, відіграючи значну роль у кожному з цих взаємопов'язаних процесів. Сучасні дослідження, спрямовані на розуміння того, як PECAM-1, разом з іншими рецепторами на поверхні і ендотеліальних клітинних клітин регулюють запалення, тромбоз і імунну відповідь [8].

Якщо в фізіологічних умовах ангіогенез є регульованим і схильним до стримування процесом, то при патології спостерігається дисбаланс між сти-

муляторами та інгібіторами неоваскуляризації [10].

Стимуляторами ангіогенезу є фактори росту, які мають широкий спектр біологічної дії. Найбільш вивчений на сьогодні ендотелій-специфічний стимулятор ангіогенезу - судинно-ендотеліальний фактор росту (VEGF), мультифункціональний цитокін, який приймає участь в фізіологічному та патологічному неоангіогенезі за рахунок стимуляції проліферації ендотеліальних клітин і утворення нових судин. Судинна система плаценти пластична і динамічно змінюється протягом вагітності. Розвиток плаценти знаходиться під контролем різних цитокінів і факторів росту, співвідношення яких змінюється в процесі вагітності. Встановлено, що у третьому триместрі експресія VEGF зменшується [11].

Оптимальна концентрація VEGF має вирішальне значення для нормальної ендотеліальної функції, а будь-яке відхилення, як підвищення, так і зниження вільного VEGF, може спричинити зміни в ендотеліальній функції, подібні до тих, що спостерігаються при преєкламсії [7].

Фактор фон Віллебранда (VW) - мультимерний глікопротеїн, присутній у плазмі крові, субендотеліальній матриці, а також накопичується в ендотеліальних клітинах (тілцях Weibel-Palade) і тромбоцитах (α -гранулах). Незважаючи на те, що нещодавно запропонована низка нових функціональних властивостей VWF, протеїн в основному відомий своїм внеском у гемостатичний процес: він опосередковує адгезію та агрегацію тромбоцитів у місцях ураження судин.

Ультрависокомолекулярні мультимери vWF (ULVWF) секретуються активованими ендотеліоцитами. У нормі «стрічки» високомолекулярних комплексів vWF відразу ж після експресії на плазматичній мембрані розпадаються на фрагменти під дією плазматичної металопротеази ADAMTS 13 і, отже, в циркулюючій крові не виявляються [4]. Фізіологічна роль мультимера vWF полягає в забезпеченні адгезії тромбоцитів до субендотеліального матриксу в умовах пошкодження судини. В умовах відносного або абсолютного дефіциту ADAMTS 13 мікросудини перекриваються гігантськими ультрависокомолекулярними vWF, на яких осідає зростаюча кількість тромбоцитів, що утворюють блокуючий мікросудинне русло тромбоцитарний тромб. Одними з чинників, які стимулюють викид ULVWF з ендотеліальних клітин, є прозапальні цитокіни TNF-альфа та IL-6. Стани, що супроводжу-

ються активацією процесів системного запалення, зокрема прееклампсія, можуть бути стимулом до розвитку тромботичної мікроангіопатії [12, 13]

Отже, імуногістохімічне дослідження експресії в плаценті різних ендотелій залежних факторів при прееклампсії, допоможе доповнити уявлення про патогенетичні механізми розвитку цього тяжкого ускладнення вагітності.

МЕТОЮ дослідження стало вивчення морфологічних та імуногістохімічних ознак плацентарних порушень у жінок з прееклампсією на тлі вагітності після ДРТ

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Проведено дослідження 30 плацент: 20 плацент жінок основної групи, вагітність яких настала після застосування ДРТ: 10 плацент жінок з прееклампсією (підгрупа 1) та 10 плацент – без прееклампсії (підгрупа 2), 10 плацент здорових жінок зі спонтанною фізіологічною вагітністю (контрольна група).

Макроскопічне та мікроскопічне дослідження посліду проводилось згідно стандартного протоколу опису та сучасних вимог до дослідження (наказ МОЗ України «Про удосконалення дитячої патологоанатомічної служби» від 19 серпня 2004 р. №417).

При патоморфологічному дослідженні вивчалися фрагменти пуповини, оболонок та плаценти, які фіксували в 10%-му розчині нейтрального забуференого формаліну (рН 7,4) протягом 24-36 годин. З парафінових блоків на ротаційному мікротомі HM 325 (ThermoShandon, Англія) виготовляли серійні гістологічні зрізи завтовшки 4-5 мкм, які потім забарвлювали гематоксиліном та еозином, для виявлення ступеня склерозу за Ван Гізоном.

Проводили імуногістохімічне дослідження (ІГХД). Для високотемпературної обробки епітопів антигенів застосовували цитратний буфер з рН6, EDTA буфер, рН8. Для оцінки судинного компоненту, стану ендотелію судин застосовано моноклональні антитіла (МАТ) до фактору VEGF (Clone RB-9031-PO) та CD31+ (Clone JC/70A). Для оцінки коагуляційного стану та ступень синтетичної активності фактору фон Віллебранда синцитієм ворсин застосовано МАТ до фактору фон Віллебранда (Factor VIII Ab-2; Clone F8/86), Використано систему детекції UltraVision Quanto HRP, хромоген ДАБ Quanto (ThermoFisherScientific, США). Позитивною реакцією вважали забарвлення депозитів

коричневого кольору з різною інтенсивністю від «0» (відсутня) до «+++» (виражена) за візуально-аналоговою шкалою.

Мікроскопічне дослідження та фотоархівування проводили із використанням світлооптичних мікроскопів «ZEISS» (Німеччина) з системою обробки даних «AxioImager. A2» при збільшенні об'єктивів 5x, 10x, 20x, 40x, біокулярної насадки 1,5 та окулярів 10 з камерою ERc 5s.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При патоморфологічному дослідженні плацент жінок контрольної групи (фізіологічна вагітність) отримані наступні результати.

Органометрично. Маса в середньому становила $480 \pm 14,2$ г.

У плодових оболонках відмічається помірний набряк та дрібні вогнища склеротично-дегенеративних змін. Тканина пуповини з незначним набряком вартонієвого студню та незначними проявами склеротичних змін у 20,0 % спостережень. У деяких випадках у просвітах судин відмічається повнокрів'я та прояви еритростазів.

У тканині зрілої плаценти відмічається помірне повнокрів'я судин та міжворсинчастого простору. Ворсини плаценти компактно розташовані з розвиненим судинним компонентом. У різних полях зору відмічаються поодинокі ділянки гіперплазії синцитіотрофобласту та незначні ділянки фібриноїдного некрозу. У ворсинах крупного калібру незначні ділянки фібриноїдного некрозу локалізуються переважно в перивазальних ділянках.

При гістохімічному забарвленні за Ван Гізоном відмічаються тоненькі прожилки фіброзної тканини в товщі ворсин, що утворюють фіброзний каркас плацентарної тканини.

Патоморфологічні дослідження послідів жінок підгрупи 1 основної групи (вагітність після ДРТ з прееклампсією) показали наступне. Органометрично, в 50,0 % плацент жінок з прееклампсією відмічено зменшення товщини, маси плаценти та її розмірів. Маса в середньому становила $440 \pm 12,8$ г, товщина – від 1,5 до 2,0 см. У 50 % органометричні показники не відрізнялися від групи контролю

Макроскопічно тканина плаценти темно-червоного кольору, борозни переважно глибокі, відмічалось повнокров'я. На материнській поверхні плацент спостерігаються дрібні згортки крові та ішемічні інфаркти.

У плодових оболонках відмічаються виражені прояви склеротичних та дистрофічних змін на тлі порушень ліпідного обміну, що проявляються інтрацелюлярним набряком та утворенням глибок хроматину ядерного компоненту. Такі зміни вказують на пошкодження ендотелію, при якому відбувається накопичення в інтимі білків плазми і кислих глікозамінгліканів, починається проникнення в стінку судини ліпопротеїдів низької і дуже низької

щільності, холестерину [14]. На плодовій поверхні оболонок відмічається нашарування фібрину з домішками лімфогістіоцитарної запальної інфільтрації. Тканина пуповини з вираженим набряком вартонієвого студню, проявами склеротичних змін. В просвітах судин відмічається пристінкове утворення фібринових тромбів з явищами еритролімфостазів (рис. 1а).

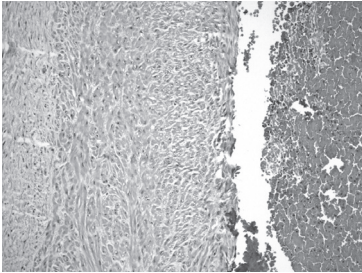
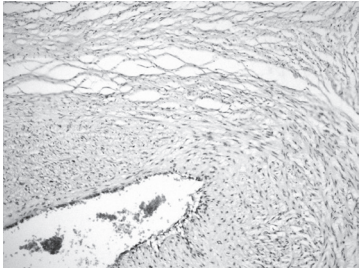
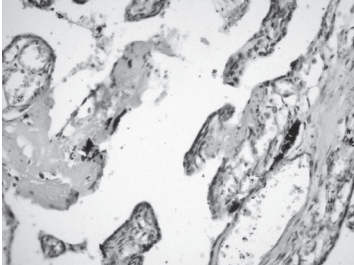
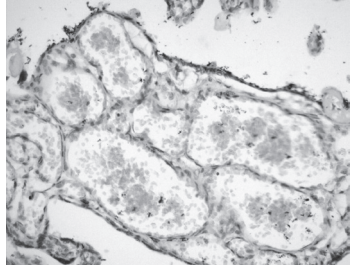
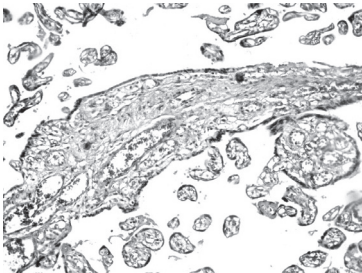
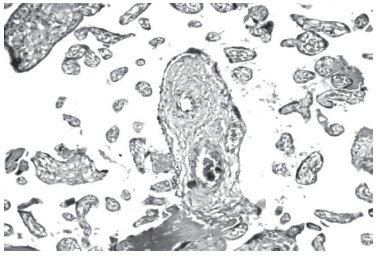
Основна група (після ДРТ)	
підгрупа 1 (пreekламсія)	підгрупа 2 (без пreekламсії)
Тканина пуповини. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення x100.	
 <p>а) Тканина пуповини з вираженим повнокрів'ям судин, дисмукоїдозом, пристінковим утворенням фібринового тромбу та частковим гемолізом еритроцитів</p>	 <p>г) Тканина пуповини з помірним набряком та явищами еритростазів.</p>
Тканина плаценти. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення x200	
 <p>б) Тканина плаценти з масивними зонами фібриноїдного некрозу та частковою руйнацією стінки судини ворсин крупного калібру</p>	 <p>д) Тканина плаценти з проявами вираженого ангіоматозу ворсин крупного калібру та проявами еритростазів.</p>
Ворсини тканини плаценти. Забарвлення за Ван Гізоном. Збільшення x100	
 <p>в) Виражені фіброзні зміни тканини ворсин</p>	 <p>е) Поперечний зріз ворсини з помірно вираженими фіброзними змінами навколо судин, вогнищевий склероз строми ворсин</p>

Рисунок 1. Морфологічні особливості плодових оболонок при пreekламсії у жінок після ДРТ

У більшості (70 %) плацент відмічено крововиливи, розташовані переважно навколо судин.

У 40 % плацент спостерігається неоднорідна гістологічна зрілість ворсинчастого дерева. На тлі ворсин, які відповідають терміну гестації, є вогнища патологічної незрілості по типу хаотично склерозованих ворсин з нерівномірним розташуванням дрібних, гіповаскуляризованих ворсинок з щільною строю з великою кількістю фібробластів

При забарвленні гематоксиліном і еозином в тканині зрілої плаценти відмічається переважання ворсин дрібного калібру з розширенням міжворсинчастого простору.

У 20 % плацент спостерігався варіант незрілості по типу дисоційованого розвитку котиледонів, коли, поряд із нормальними термінальними ворсинами зустрічались зони проміжних диференційованих чи незрілих ворсин, але переважали ворсини, які відповідали гестаційному віку.

Значна частина ворсин аваскулярної будови, зустрічаються ворсини з тотальними та субтотальними проявами фібриноідного некрозу та проявами виражених склеротичних та дистрофічних змін (рис. 1б). У ворсинах з вираженими дистрофічними змінами спостерігаються виражені ділянки гіперплазії клітин синцитіотрофобласту з формування синцитіальних вузликів на їх поверхні. У просвітах судин різного калібру відмічаються прояви еритростазів з частковим гемолізом еритроцитів та формуванням пристінкового тромбоутворення. У частині полів зору в міжворсинчастому просторі відмічаються ділянки скупчення фібрину з домішками еритроцитів та поодиноких лімфоцитів.

При гістохімічному забарвленні за Ван-Гізеном відмічається виражене розростання сполучної тканини переважно у ворсинах середнього та крупного калібру в периваскулярних зонах (рис. 1в).

Загальна картина відповідала в 60 % випадках (рання прееклампсія) декомпенсованій хронічній плацентарній недостатності, в 40 % випадках (пізня прееклампсія) відповідно субкомпенсованій.

При патоморфологічному дослідженні послідів жінок, вагітність яких настала в результаті застосування ДРТ і не була ускладнена прееклампсією (підгрупа 2) у плодових оболонках відмічаються помірні прояви дегенеративно-склеротичних змін та помірний набряк. Тканина пуповини без виражених патологічних змін з помірними проявами набряку вартонієвого студню та поодинокими полями еритростазів в просвіті судин (рис. 1г).

При патоморфологічному дослідженні тканини плаценти даної групи відмічається нерівномірність щільності розташування ворсин та ділянки зменшення міжворсинчастого простору. Переважають ворсини дрібного калібру, що з'єднуються між собою клітинами синцитію трофобласта та утворюють афункціональні ділянки. Порівняно з контрольною групою дистрофічні зміни у зрілій плаценті більш виражені, що проявляється більш поширеними полями фібриноідного некрозу та вираженими склеротичними явищами, дрібними зонами відкладання солей кальцію. В окремих ворсинах спостерігаються ділянки гіперплазії синцитіотрофобласту у вигляді продовгуватих ділянок потовщення епітеліального компоненту на поверхні ворсин та ділянок формування синцитіальних вузликів. У частині ворсин середнього та крупного калібру можна спостерігати розвиток капілярів великого діаметру з витоншеною ендотеліальною стінкою (рис. 1д).

При гістохімічному забарвленні за Ван-Гізеном відмічається помірне розростання сполучної тканини по типу «замуровування» ворсин плаценти, помірно виражений склероз строми (рис. 1е).

Морфологічні зміни при ДРТ без прееклампсії у більшості (80,0 %) випадків відповідали компенсованій хронічній плацентарній недостатності, а в 20,0 % дегенеративно-інволютивним змінам, при-таманним тканині зрілої плаценти.

При проведенні імуногістохімічного дослідження з використанням МАТ до CD31 у плацентах жінок контрольної групи відмічається виражена позитивна експресія клітинами ендотелію судин з інтенсивністю забарвлення до «+++», що утворюють безперервні ланцюжки позитивних клітин (рис. 2а). В окремих ворсинах відмічаються поодинокі позитивні клітини в позасудинному просторі в товщі тканини ворсини з інтенсивністю забарвлення «++»-«+++».

Дослідження з МАТ антитілами до фактору фон Віллебранду виявляє поодинокі слабкопозитивні до «+» комплекси депозитів, що являють собою дрібні позитивно забарвлені ділянки синцитіотрофобласту та невеликі позитивні ділянки ендотелію (рис. 2б).

При дослідженні тканини плаценти з МАТ до судинного-ендотеліального фактору росту (VEGF) відмічається слабо виражена до «+» позитивна реакція переважно в клітинах синцитіотрофобласту, яка представлена поодинокими клітинами на по-

верхні ворсин та поодинокими клітинами ендотелію (рис. 2в), що відповідає даним літератури про зниження експресії VEGF клітинами синцитіотро-

фобласту та ендотеліальними клітинами судин ворсин наприкінці вагітності [11].

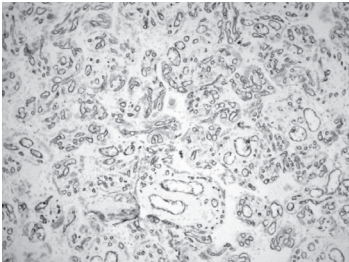
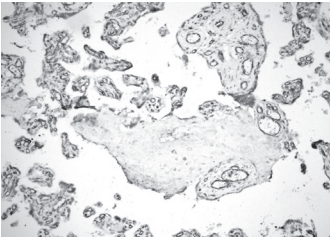
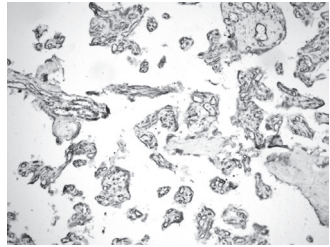
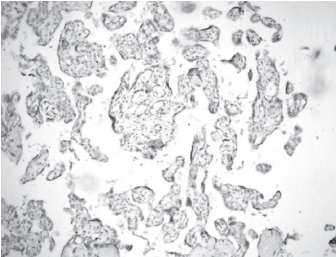
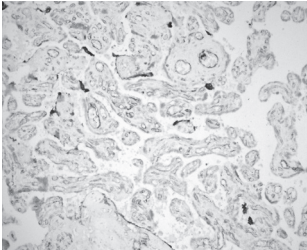
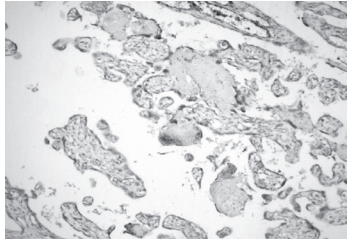
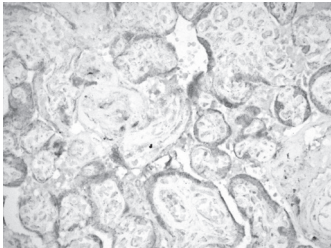
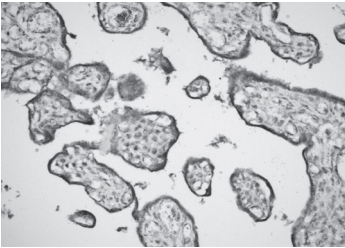
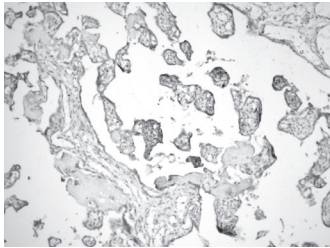
Контрольна група	Основна група (після ДРТ)	
	підгрупа 1 (пreekлампсія)	підгрупа 2 (без пreekлампсії)
ІГХД з МАТ до CD31+. Збільшення x100.		
 а) Тканина зрілої плаценти з вираженою експресією ендотелію судин	 г) Слабко виражена експресія клітинами судин ендотелію з інтенсивністю забарвлення «+» та ділянками судин з переривистим контуром	 є) Інтенсивність забарвлення експресуючих клітин ендотелію «+++».
ІГХД з МАТ до фактору фон Віллебранду. Збільшення x100		
 б) Поодинокі депозити переважно на поверхні ворсин зі слабкою інтенсивністю забарвлення	 д) Виявлення позитивних депозитів з помірною інтенсивністю забарвлення в стінках судин та позитивна реакція синцитіальних вузликів з інтенсивністю забарвлення «+++»	 ж) Переважне виявлення депозитів з помірною інтенсивністю забарвлення в зонах дегенеративних змін у тканині плаценти.
ІГХД з МАТ до VEGF. Збільшення x100		
 в) Окремі позитивні депозити слабкої інтенсивності експресії, які розташовуються окремими групами переважно в зонах виражених дегенеративних змін	 е) Виражена експресія депозитів з інтенсивністю забарвлення «+++» у стінках судин та на поверхнях ворсин	 з) Помірна експресія депозитів переважно на поверхні ворсин дрібного калібру з інтенсивністю забарвлення «++»

Рисунок 2. Імуногістохімічне дослідження плаценти при пreekлампсії у жінок після ДРТ

При проведенні ІГХД з використанням МАТ до CD31 у плацентах жінок з пreekлампсією (підгрупа 1) відмічається позитивна експресія клітинами ен-

дотелію судин з інтенсивністю забарвлення до «+», що місцями має переривчастий характер (рис. 2г). У ділянках фібриноїдного некрозу також наявна

слабкопозитивна експресія «+» в клітинах синцитіотрофобласту. Зниження рівня експресії CD31 в структурах плаценти жінок після ДРТ з прееклампсією можливо пов'язано з дисфункцією ендотелію судин, в результаті чого виникає послаблення міжклітинних поєднань та посилення компенсаторного ангіоматозу, а також утворення факторів адгезії на ендотеліоцитах.

Дослідження з МАТ до фактору фон Віллебранду виявило групи позитивно забарвлених депозитів на поверхні ворсин та стінках судин з інтенсивністю забарвлення «+++» (рис.2д.). На окремих ворсинах клітини, що експресують фактор, утворюють вузликоподібні структури. Також наявні депозити з інтенсивністю забарвлення «++» в товщі тканини ворсин з периваскулярною локалізацією та збільшенням оптичної щільності в зоні фібриноїдної деструкції.

При дослідженні тканини плаценти з антибілками до судинного-ендотеліального фактору росту (VEGF) відмічається виражена експресія з інтенсивністю забарвлення від «++» до «+++» на поверхні ворсин середнього та крупного калібру, а також виражена позитивна реакція ендотелію судин (рис. 2е). Можна припустити, що підвищений окислювальний стрес і VEGF сприяють посиленню порушення перфузії плаценти [15]. Більш ранні спостереження сходились на думці про патогенетичне значення для акушерських ускладнень порушення балансу ангіогенез-апоптоз у бік апоптозу з відповідним зниженням експресії проангіогенного фактору VEGF, однак останні повідомлення піддають це твердження сумнівам і наводять результати про його зростання, зокрема при прееклампсії [16].

При проведенні ІГХД з використанням МАТ до CD31 у плацентах жінок 2 підгрупи відмічається помірна експресія клітинами ендотелію судин ворсин плаценти з інтенсивністю забарвлення до «++» (рис. 2є), переважання судин дрібного калібру та наявні ділянки підвищеного ангіоматозу.

ІГХД з МАТ до фактору фон Віллебранду виявляє поодинокі групи депозитів з помірною експресією до «+++» на поверхні переважно ворсин з більш вираженими дистрофічними змінами та в стінках судин середнього та крупного калібру (рис. 2ж).

При дослідженні тканини плаценти з МАТ до судинного-ендотеліального фактору росту (VEGF) відмічається переважно позитивна експресія клітинами синцитію з інтенсивністю забарвлення

до «+++» (рис. 2з) та лише в поодиноких ворсинах можна спостерігати позитивну реакцію в клітинах ендотелію судин зі слабкою інтенсивністю забарвлення до «+».

Отже, у плаценті жінок без прееклампсії ІГХД також виявили певні, хоча і менш виражені, зміни, що вказують на наявність ендотеліальної дисфункції, склеротичні та тромботичні зміни, нестабільність судинної стінки та незбалансований ангіогенез, на що вказували і інші автори [17].

ВИСНОВКИ

У тканинах посліду жінок, вагітність яких настала після застосування допоміжних репродуктивних технологій, спостерігаються певні патоморфологічні зміни, які відрізняються від морфологічної картини інволютивно-приспосувальних змін посліду при фізіологічній вагітності.

При цьому для жінок з прееклампсією характерні найбільш виражені явища дегенеративних змін у тканині оболонки посліду та тканині плаценти. Спостерігалися випадки з помірною запальною інфільтрацією, що, як правило, виявлялися в плацентарних оболонках. Характерними ознаками були прояви вираженого субтотального фібриноїдного некрозу ворсин з вираженими проявами дегенеративно-склеротичних змін на тлі порушень ліпідного обміну, явищами гіперплазії синцитіотрофобласту з формуванням вузликів та проявами порушення реології крові різного ступеня вираженості. На плодовій поверхні оболонки відмічається нашарування фібрину з домішками лімфогістіоцитарної запальної інфільтрації. В просвітах судин відмічається пристінкове утворення фібринових тромбів з явищами еритролімфостазів. В більшості (70 %) плацент відмічено крововиливи, розташовані переважно навколо судин. Загальна картина відповідала в 60 % випадках (рання прееклампсія) декомпенсованій хронічній плацентарній недостатності, в 40 % випадках (пізня прееклампсія) відповідно субкомпенсованій.

Така морфологічна картина відповідає проявам тромботичної мікроангіопатії, якій відводять провідне місце у патогенезі прееклампсії.

Морфологічні зміни при ДРТ без прееклампсії у більшості (80,0 %) випадків відповідали компенсованій хронічній плацентарній недостатності, а в 20,0 % дегенеративно-інволютивним змінам, притаманним тканині зрілої плаценти.

При імуногістохімічному дослідженні плацент

з моноклональними антитілами до CD31+ відмічалось виражене зниження експресії клітинами ендотелію в групі після ДРТ з преєклампсією, помірне зниження експресії в групі після ДРТ без преєклампсії відносно високого рівня експресії в при фізіологічній вагітності, що можливо пов'язано з дисфункцією ендотелію судин, в результаті чого виникає послаблення міжклітинних з'єднань.

Високий та підвищений рівень експресії фактору фон Віллебранду у плацентах жінок після ДРТ з преєклампсією та без преєклампсії відповідає вираженості склеротичних та тромботичних змін тканини посліду.

Подібна тенденція спостерігалась і при визначенні експресії VEGF: високий рівень при преєклампсії та підвищений після ДРТ без преєклампсії у порівнянні з незначною експресією при фізіологічній вагітності, що може призводити до нестабільності судинної стінки та незбалансовано-го ангиогенезу.

Як патоморфологічні, так і імуногістохімічні зміни в плаценті були більш виражені при ранньому розвитку преєклампсії, що відповідає сучасним поглядам про плацентарне походження ранньої преєклампсії та неплацентарне – пізньої.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Kawwass JF, Badell ML. Maternal and Fetal Risk Associated With Assisted Reproductive Technology. *Obstet Gynecol.* 2018 Sep;132(3):763-772
2. Luke B. Pregnancy and birth outcomes in couples with infertility with and without assisted reproductive technology: with an emphasis on US population-based studies. *Am J Obstet Gynecol.* 2017 Sep;217(3):270-281.
3. Barnhart KT. Assisted reproductive technologies and perinatal morbidity: interrogating the association. *Fertil Steril.* 2013. Feb;99(2):299-302.
4. Zhu L, Zhang Y, Liu Y, Zhang R, Wu Y, Huang Y et al. Maternal and Live-birth Outcomes of Pregnancies following Assisted Reproductive Technology: A Retrospective Cohort Study. *Sci Rep.* 2016 Oct 20;6:35141.
5. Tarlatzi TB, Romain Imbert R, Mercadal BA, Demeestere I, Venetis CA, Englert Y, Delbaere A. Does oocyte donation compared with autologous oocyte IVF pregnancies have a higher risk of preeclampsia? *Reprod Biomed Online.* 2017;34(1):11-8.
6. Burton GJ, Redman CW, Roberts JM, Moffett A. Preeclampsia: pathophysiology and clinical implications *BMJ.* 2019 Jul 15;366:l2381. doi: 10.1136/bmj.l2381.
7. Boeldt, D., Bird, I. Vascular adaptation in pregnancy and endothelial dysfunction in preeclampsia, *Journal of Endocrinology*, 2017; 232(1), R27-R44. Retrieved Jul 29, 2019, from <https://joe.bioscientifica.com/view/journals/joe/232/1/R27.xml>
8. Privratsky JR, Newman PJ. PECAM-1: regulator of endothelial junctional integrity. *Cell Tissue Res.* 2014;355(3):607-619. doi:10.1007/s00441-013-1779-3
9. Maas M, Stapleton M, Bergom C, Mattson DL, Newman DK, Newman PJ. Endothelial cell PECAM-1 confers protection against endotoxic shock. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2005;288:H159-H164.
10. Chakrabarti S, Barrow CJ, Kanwar RK, Ramana V, Kanwar JR1. Current protein-based anti-angiogenic therapeutics. *Mini Rev Med Chem.* 2014;14(3):291-312.
11. Соколов Д.И., Колобок А.В., Лесничия М.В. Роль проангиогенных и антиангиогенных факторов в развитии плаценты // *Медицинская Иммунология.* 2008, Т.10, №4-5, С.347-352.
12. Peter J. Lenting, Olivier D. Christophe and Cécile V. Denis von Willebrand factor biosynthesis, secretion, and clearance: connecting the far ends *Blood* 2015 125:2019-2028; doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2014-06-528406>
13. Акиншина С.В., Бицадзе В.О., Гадаева З.К., Макацария А.Д. Значение тромботической микроангиопатии в патогенезе акушерских осложнений *Акушерство, гинекология и репродукция.* 2015; N2: с.62-71 <http://www.gyn.su/article.php?what=290>
14. Недзьведь, М. К. Патологическая анатомия : учеб пособие / М. К. Недзьведь, Е. Д. Черствый. - Минск : Выш. шк., 2011. - 640 с.
15. Bosco C, González J, Gutiérrez R, Parra-Cordero M, Barja P, Rodrigo R. Oxidative damage to pre-eclamptic placenta: immunohistochemical expression of VEGF, nitrotyrosine residues and von Willebrand factor. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2012 Nov;25(11):2339-45. doi: 10.3109/14767058.2012.695823. Epub 2012 Jun 19.
16. Щеголев А.И., Туманова У.Н., Ляпин В.М. Нарушения структуры и васкуляризации ворсин плаценты при задержке роста плода // *Современные проблемы науки и образования.* – 2018. – № 4.; URL: <http://www.science-education.ru/article/view?id=27921> (дата обращения: 01.08.2019)
17. Abdel-Hamid AA, Fergany AE, Mesbah Y, Soliman MF. Pattern of adhesive molecules expression in placenta of non-complicated ART pregnancies *Placenta.* 2016 Dec;48:126-132. doi: 10.1016/j.placenta.2016.10.016. Epub 2016 Nov 2.

REFERENCES

1. Kawwass JF, Badell ML. Maternal and Fetal Risk Associated With Assisted Reproductive Technology. *Obstet Gynecol.* 2018 Sep;132(3):763-772
2. Luke B. Pregnancy and birth outcomes in couples with infertility with and without assisted reproductive technology: with an emphasis on US population-based studies. *Am J Obstet Gynecol.* 2017 Sep;217(3):270-281.
3. Barnhart KT. Assisted reproductive technologies and perinatal morbidity: interrogating the association. *Fertil Steril.* 2013. Feb;99(2):299-302.
4. Zhu L, Zhang Y, Liu Y, Zhang R, Wu Y, Huang Y et al. Maternal and Live-birth Outcomes of Pregnancies following Assisted Reproductive Technology: A Retrospective Cohort Study. *Sci Rep.* 2016 Oct 20;6:35141.
5. Tarlatzi TB, Romain Imbert R, Mercadal BA, Demeestere I, Venetis CA, Englert Y, Delbaere A. Does oocyte donation compared with autologous oocyte IVF pregnancies have a higher risk of preeclampsia? *Reprod Biomed Online.* 2017;34(1):11-8.
6. Burton GJ, Redman CW, Roberts JM, Moffett A. Preeclampsia: pathophysiology and clinical implications *BMJ.* 2019 Jul 15;366:l2381. doi: 10.1136/bmj.l2381.
7. Boeldt, D., Bird, I. Vascular adaptation in pregnancy and endothelial dysfunction in preeclampsia, *Journal of Endocrinology*, 2017; 232(1), R27-R44. Retrieved Jul 29, 2019, from <https://joe.bioscientifica.com/view/journals/joe/232/1/R27.xml>
8. Privratsky JR, Newman PJ. PECAM-1: regulator of endothelial junctional integrity. *Cell Tissue Res.* 2014;355(3):607-619. doi:10.1007/s00441-013-1779-3
9. Maas M, Stapleton M, Bergom C, Mattson DL, Newman DK, Newman PJ. Endothelial cell PECAM-1 confers protection against endotoxic shock. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2005;288:H159-H164.

- Chakrabarti S, Barrow CJ, Kanwar RK, Ramana V, Kanwar JR. Current protein-based anti-angiogenic therapeutics. *Mini Rev Med Chem.* 2014;14(3):291-312.
- Sokolov D.I., Kolobok A.V., Lesnichiya M.V. The role of pro-angiogenic and anti-angiogenic factors in the development of the placenta. *Meditinskaya Immunologiya.* 2008, 10 (4-5):347-52.
- Peter J. Lenting, Olivier D. Christophe and Cécile V. Denis von Willebrand factor biosynthesis, secretion, and clearance: connecting the far ends *Blood* 2015 125:2019-2028; doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2014-06-528406>
- Akinshina SV, Biczadze VO, Gadaeva ZK, Makaczariya AD. The importance of thrombotic microangiopathy in the pathogenesis of obstetric complications/ *Akusherstvo, ginekologiya i reprodukciya.* 2015; N2: c.62-71 <http://www.gyn.su/article.php?what=290>
- Nedzved' MK., Cherstvyj ED. *Pathological anatomy: study guide.* Minsk, 2011. 640.
- Bosco C, González J, Gutiérrez R, Parra-Cordero M, Barja P, Rodrigo R. Oxidative damage to pre-eclamptic placenta: immunohistochemical expression of VEGF, nitrotyrosine residues and von Willebrand factor. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2012 Nov;25(11):2339-45. doi: 10.3109/14767058.2012.695823. Epub 2012 Jun 19.
- Shchegolev A.I., Tumanova U.N., Lyapin V.M. Violations of the structure and vascularization of the villi of the placenta with fetal growth retardation. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya.* 2018. 4.; URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=27921> (дата обращения: 01.08.2019)
- Abdel-Hamid AA, Firgany AE, Mesbah Y, Soliman MF. Pattern of adhesive molecules expression in placenta of non-complicated ART pregnancies *Placenta.* 2016 Dec;48:126-132. doi: 10.1016/j.placenta.2016.10.016. Epub 2016 Nov 2.

РЕЗЮМЕ

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ ПЛАЦЕНТАРНЫХ НАРУШЕНИЙ У ЖЕНЩИН С ПРЕЭКЛАМПСИЕЙ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ ПОСЛЕ ВРТ

САВЧЕНКО С.Е., ДЯДЫК Е.А., КОЛОМИЙЧЕНКО Т.В., РОГАВА И.В.

Беременность, наступившая в результате применения ВРТ, относится к категории высокого риска преэклампсии. Этиология преэклампсии недостаточно выяснена. **Целью** исследования стало изучение морфологических и иммуногистохимических признаков плацентарных нарушений у женщин с преэклампсией на фоне беременности после ВРТ. **Материалы и методы исследования.** Проведено патоморфологическое и иммуногистохимическое исследование 20 плацент женщин основной группы, беременность которых наступила после применения ВРТ: 10 плацент женщин с преэклампсией и 10 плацент - без преэклампсии, 10 плацент здоровых женщин со спонтанной физиологической беременностью (контрольная группа). Применяли моноклональные антитела к фактору CD31 +, VEGF и фактору фон Виллебранда. **Результаты исследования.** Для женщин с преэклампсией характерны выраженные явления дегенеративных изменений в ткани оболочек последа и ткани плаценты. Наблюдались случаи с умеренной воспалительной инфильтрацией в плацентарных оболочках. Характерными были проявления выраженного

субтотального фибриноидного некроза ворсин с выраженными дегенеративно-склеротическими изменениями на фоне нарушений липидного обмена, явления гиперплазии синцитиотрофобласта с формированием узелков и проявлениями нарушения реологии крови. На плодовой поверхности оболочек отмечается наслоение фибрина с примесью лимфогистиоцитарной воспалительной инфильтрации, в просветах сосудов - пристеночное образование фибриновых тромбов с явлениями эритролимфостазов. В большинстве (70%) плацент отмечены кровоизлияния, расположенные преимущественно вокруг сосудов. При иммуногистохимическом исследовании с моноклональными антителами к CD31 + отмечалось выраженное снижение экспрессии клетками эндотелия после ВРТ с преэклампсией относительно высокого уровня экспрессии в при физиологической беременности. Высокий и повышенный уровень экспрессии фактора фон Виллебранда после ВРТ соответствует выраженности склеротических и тромботических изменений ткани последа. Выявлен высокий уровень экспрессии VEGF при преэклампсии по сравнению с незначительной экспрессией при физиологической беременности. **Выводы.** В плаценте женщин с преэклампсией иммуногистохимические исследования выявили выраженные, изменения, указывающие на наличие эндотелиальной дисфункции, склеротические и тромботические изменения, нестабильность сосудистой стенки. Как патоморфологические, так и иммуногистохимические изменения в плаценте были более выражены при раннем развитии преэклампсии, что соответствует современным взглядам о плацентарном происхождении ранней преэклампсии и неплацентарном - поздней.

Ключевые слова: беременность, вспомогательные репродуктивные технологии, преэклампсия, плацента, иммуногистохимические исследования

SUMMARY

MORPHOLOGICAL AND IMMUNOGISTOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF PLACENTAL DISORDERS IN WOMEN WITH PREECLAMPSIA IN PREGNANCY AFTER ART

SAVCHENKO S.E., DYADYK O.O., KOLOMIICHENKO T.V., ROGAVA I.V.

Pregnancy resulting from the use of ART is classified as a high risk of preeclampsia. The etiology of preeclampsia is not well understood. The **aim** of the research was to study the morphological and immunohistochemical signs of placental abnormalities in women with preeclampsia during pregnancy after ART. **Materials and research methods.** A pathomorphological and immunohistochemical study was carried out on 20 placentas of women in the main group who became pregnant after using ART: 10 placentas of women with preeclampsia and 10 placentas without preeclampsia, 10 placentas of healthy women with spontaneous physiological pregnancy (control group). Monoclonal antibodies to the CD31 + factor, VEGF and von Willebrand factor were used. **The results of the research.** For women with preeclampsia, pronounced phenomena of degenerative changes in the tissue of the membranes of the placenta and placental tissue are

characteristic. Cases with moderate inflammatory infiltration in the placental membranes were observed. Characteristic were manifestations of severe subtotal fibrinoid villi necrosis with severe degenerative-sclerotic changes in the presence of lipid metabolism disorders, the phenomenon of syncytiotrophoblast hyperplasia with the formation of nodules and manifestations of blood rheology disorders. On the fruit surface of the membranes, layering of fibrin with an admixture of lymphohistiocytic inflammatory infiltration is noted, in the lumens of the vessels - parietal formation of fibrin thrombi with the phenomena of erythrolimphostasis. In the majority (70%) of the placenta, hemorrhages were noted, located mainly around the vessels. An immunohistochemical study with monoclonal antibodies to CD31 + showed a marked decrease in the expression of endothelial cells after ART with preeclampsia of a relatively high level of expression in physiological pregnancy. The high and

increased level of expression of von Willebrand factor after ART corresponds to the severity of sclerotic and thrombotic changes in the tissue of the placenta. A high level of VEGF expression during preeclampsia was revealed compared with a slight expression during physiological pregnancy. Findings. In the placenta of women with preeclampsia, immunohistochemical studies revealed pronounced changes indicating the presence of endothelial dysfunction, sclerotic and thrombotic changes, and instability of the vascular wall. Both pathomorphological and immunohistochemical changes in the placenta were more pronounced with the early development of preeclampsia, which corresponds to modern views on the placental origin of early preeclampsia and non-placental - late.

Key words: pregnancy, assisted reproductive technologies, preeclampsia, placenta, immunohistochemical studies