

© Коллектив авторов, 2006
УДК 611.013.85

Д.Э. Коржевский¹, В.А. Отеллин^{1,2}, А.А. Неокесарийский¹, А.Н. Старорусская³ и Н.Г. Павлова³

ОРГАНИЗАЦИЯ И ЦИТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ БАРЬЕРНЫХ СТРУКТУР ПЛАЦЕНТЫ ЧЕЛОВЕКА *

¹Отдел морфологии (руков. — чл.-кор. РАМН проф. В.А. Отеллин) Института экспериментальной медицины РАМН, ²лаборатория онтогенеза нервной системы (руков. — чл.-кор. РАМН проф. В.А. Отеллин) Института физиологии им. И.П. Павлова РАН и ³лаборатория физиологии и патофизиологии плода (зав. — д-р мед. наук Н.Г. Павлова) Научно-исследовательского института акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта РАМН, Санкт-Петербург

Цель настоящей работы состояла в изучении структурной организации элементов плацентарного барьера у человека с применением методов световой и электронной микроскопии, иммуноцитохимии. В ходе исследования определены важные особенности организации плацентарного барьера — различия в структуре и содержании коллагена IV типа в базальных мембранах эндотелия и трофобласта, наличие актина гладкомышечных клеток в стенках капилляров, формирующих синцитиокапиллярные мембраны. Установлено, что в межкапиллярной строме терминальных ворсинок имеются как фибробласты, так и макрофаги, но отсутствуют миофибробласты. Учитывая отсутствие гладких миоцитов и миофибробластов, наиболее вероятно, что актин гладких миоцитов в области синцитиокапиллярных мембран содержат перicytes.

Ключевые слова: плацента, человек, ультраструктура, иммуноцитохимия, плацентарный барьер.

Плацентарный барьер — особый морфофункциональный комплекс, обеспечивающий трофические потребности плода, изолирующий его от неблагоприятных воздействий и обеспечивающий толерантность иммунной системы матери по отношению к генетически чужеродным тканям плода [4, 5, 9, 11]. Несмотря на значительное количество исследований, посвященных функционированию плаценты в разные сроки беременности, до настоящего момента остаются дискуссионными многие вопросы, связанные с гистофизиологией основных элементов плацентарного барьера и обеспечением ауто- и паракринной регуляции кровообращения и защитных функций плаценты [3, 11]. Решение этих вопросов может базироваться только на детальном морфологическом анализе структурной организации плаценты как при нормально протекающей беременности, так и при патологии.

Цель настоящей работы состояла в изучении структурной организации элементов плацентарного барьера у человека.

Материал и методы. В исследовании использованы фрагменты 28 плацент человека, полученных после физиологических родов при доношенной беременности. Для световой микроскопии материал фиксировали в 0,5% растворе параформальдегида на 80° этаноле или в цинк-этанол-формальдегиде и заливали в парафин по общепринятой методике. Препараты окрашивали гематоксилином—эозином. На срезах иммуноцитохимически при помощи моноклональных и поликлональных антител (DakoCytomation, Дания) выявляли актин гладких миоцитов (α -актин), эндотелиальный маркер CD31 (PECAM-1), а также один из компонентов базальных мембран — коллаген IV типа. Связавшиеся первичные антитела визуализировали, используя наборы EnVision+ и LSAB2 (DakoCytomation, Дания).

Для электронной микроскопии материал фиксировали в 2,5% растворе глутаральдегида на 0,01M фосфатном буфере (pH 7,4) с добавлением сахарозы, отмывали в буфере с последующей фиксацией в 2% растворе тетраоксида осмия на 0,01 M фосфатном буфере (pH 7,4), обезвоживали в этаноле и заключали в эпон-812. Ультратонкие срезы, контрастированные уранилацетатом и цитратом свинца, просматривали в электронном микроскопе JEM 100B (JEOL, Япония).

Результаты исследования. Во всех исследованных препаратах присутствовали типичные терминальные, промежуточные и стромальные (более крупные) ворсины. Терминальные ворсины покрыты слоем трофобласта и содержат обычные и широкие кровеносные капилляры, расположенные в небольшом объеме соединительнотканной стромы. В некоторых участках ворсин капилляры приближены к источникам безъядерным участкам синцитиотрофобласта (симпластотрофобласта) и формируют особые структурные комплексы плацентарного барьера, так называемые синцитиокапиллярные мембраны (рис. 1).

Трофобластический компонент терминальных ворсин состоит из синцитиотрофобласта и отдельных клеток цитотрофобласта, расположенных на общей базальной мембране. В некоторых ворсинах слой трофобласта может отсутствовать и замещаться фибриноидом. Фрагменты фибриноида в отдельных случаях могут располагаться под синцитием и между элементами цитотрофобласта. В фибриноиде отчетливо выявляются аморфный, мелкогранулярный и тонкофибрилярный компоненты. Базальная мембрана трофобласта неодинакова по толщине, дает слабую, неравномерную по интенсивности иммуноцитохимическую реакцию на коллаген IV типа, иногда содержит электронно-плотные гранулы. Хориальная базальная мембрана, как правило, не сливается с базальной мембраной капилляров даже в области синцитиокапиллярных мембран (см. рис. 1). Ее особенностью в зрелой плаценте является отсутствие отчетливо выраженного электронно-прозрачного слоя, прилежащего к трофобласту (*lamina rara*). Небольшие базальные отростки трофобластических элементов обычно погружены в материал базальной мембраны и как бы замурованы в нем.

Стенка капилляров, расположенных вблизи поверхности ворсин и формирующих синцитиокапиллярные мембраны, состоит из эндотелиальной выстилки, небольших отростков перicytes и общей для эндотелия и перicytes базальной мембраны, наружная часть которой нередко имеет несколько волнистых электронно-плот-

*Работа выполнена при поддержке программы президиума Российской академии наук «Фундаментальные науки — медицине».

ных слоев, продолжающихся в межклеточное вещество стромы ворсины (см. рис. 1). Тела перicyтов, как правило, располагаются вдоль капилляров вне области синцитиокапиллярных мембран. Базальная мембрана капилляров дает неравномерную, часто интенсивную иммуноцитохимическую реакцию на коллаген IV типа (рис. 2, а). Эндотелиоциты соединены между собой плотными контактами и не фенестрированы, содержат эндотелиальный маркер CD31. При изучении препаратов создается впечатление, что отдельные CD31-иммунопозитивные гранулы находятся в перикапиллярных зонах вне связи с сосудом (см. рис. 2, б). Снаружи от базальной мембраны иногда располагаются периваскулярные клетки, содержащие гранулы гликогена. Интересным фактом явилось обнаружение актина гладких миоцитов (α -актин) в стенке некоторых капилляров, формирующих синцитиокапиллярные мембраны (см. рис. 2, в). Электронно-микроскопическое исследование свидетельствует о том, что гладких миоцитов и миофибробластов в составе стенки этих сосудов не имеется.

В области плацентарного барьера между базальными мембранами трофобласта и капилляра имеется небольшое щелевидное пространство, в котором можно наблюдать небольшие группы коллагеновых волокон (см. рис. 1, а, б).

Межкапиллярная строма ворсин бедна клеточными элементами, среди которых определяются фибробласты (рис. 3) и отростчатые клетки, напоминающие макрофаги. Межклеточное вещество представлено пучками коллагеновых волокон и аморфным веществом различной электронной плотности. В отдельных участках ворсин межклеточное вещество содержит коллаген IV типа.

Обсуждение полученных данных. Данные о структуре терминальных ворсин плаценты, полученные в настоящем исследовании, в целом согласуются с результатами многочисленных исследований, выполненных отечественными и зарубежными исследователями на этом объекте [1–3, 5–7]. Между тем, изучение значительного объема материала с использованием современных методов иммуноцитохимии позволило определить ряд важных особенностей организации плацентарного барьера, на которые не обращали должного внимания ранее. Одна из таких особенностей — существование различия строения базальных мембран эндотелия и трофобласта и содержания в них коллагена IV типа, что, по-видимому, свидетельствует о неодинаковой функциональной роли этих образований в обеспечении состоятельности барьера.

Выявление изоформы актина, характерной для гладких миоцитов, в стенках капилляров терминальных ворсин позволяет по-новому взглянуть на проблему регуляции плацентарного кровотока на уровне капиллярного звена. К сожалению, в результате настоящего исследования не удалось получить ответ на вопрос о том, какие клетки в стенке капилляра содержат α -актин. Согласно полученным данным и сведениям, представленным в научной литературе [1, 2, 5, 7], гладких миоцитов в составе стенки капилляров плаценты нет. Актин гладких миоцитов в ворсинах плаценты могут содержать периваскулярные миофибробласты [8, 10], однако в области хориокапиллярных мембран эти клетки не обнаружены. Вероятнее всего, α -актин содержат перicyты.

Таким образом, в ходе настоящего исследования получены новые сведения об особенностях организации барьерных и регуляторных структур плаценты, которые должны способствовать развитию представлений о молекулярных механизмах, лежащих в осно-

ве нарушения функционирования плацентарного барьера при различных патологических процессах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беков Д.Б. и Павлова Т.В. Архитектоника и ультраструктура сосудов хориона плаценты человека. *Морфология*, 1992, т. 102, вып. 5, с. 129–139.
2. Бобков В.М. Количественная характеристика компонентов плацентарного барьера женщин при неосложненной доношенной беременности. *Арх. анат.*, 1979, т. 76, вып. 6, с. 80–83.
3. Гуревич П.С., Бенхур Г., Шперлинг И.Д. и др. Иммунопатоморфология плацентарного барьера человека в I триместре беременности при воспалительных заболеваниях родовых путей. *Арх. пат.*, 2005, т. 67, № 1, с. 6–9.
4. Калашникова Е.П. Плацента человека и ее роль в норме и при патологии. *Арх. пат.*, 1985, т. 47, № 1, с. 3–11.
5. Милованов А.П. Патология системы мать—плацента—плод. М., Медицина 1999.
6. Burton G.J. and Tham S.W. Formation of vasculo-syncytial membranes in the human placenta. *J. Dev. Physiol.*, 1992, v. 18, № 1, p. 43–47.
7. Hung T., Skepper J.N., Charnock-Jones D.S. and Burton G.H. Hypoxia-reoxygenation: a potent inducer of apoptotic changes in the human placenta and possible etiological factor in preeclampsia. *Circ. Res.*, 2002, v. 90, № 12; p. 1274–1281.
8. Kacemi A., Vervelle C., Uzan S. and Challier J.C. Immunostaining of vascular, perivascular cells and stromal components in human placental villi. *Cell. Mol. Biol.*, 1999, v. 45, № 1, p. 101–113.
9. Kim H.S., Cho J.H., Park H.W. et al. Endotoxin-neutralizing antimicrobial proteins of the human placenta. *J. Immunol.*, 2002, v. 168, № 2, p. 2356–2364.
10. Macara L., Kingdom J.C., Kohonen G. et al. Elaboration of stem villous vessels in growth restricted pregnancies with abnormal umbilical artery Doppler waveforms. *Br. J. Obstet. Gynaecol.*, 1995, v. 102, № 10, p. 807–812.
11. Syme M.R., Paxton J.W. and Keelan J.A. Drug transfer and metabolism by the human placenta. *Clin. Pharmacokinet.*, 2004, v. 43, № 8, p. 487–514.

Поступила в редакцию 03.03.2006 г.

ORGANIZATION AND CYTOCHEMICAL FEATURES OF BARRIER STRUCTURES IN HUMAN PLACENTA

D.E. Korzhevskiy, V.A. Otellin, A.A. Neokessariyskiy, A.N. Starorusskaya and N.G. Pavlova

The aim of the present study was to investigate structural pattern of human placental barrier elements using light and electron microscopy and immunocytochemistry. Some important peculiarities of organization of the placental barrier were detected: difference in structure and amount of collagen IV in the basal lamina of endothelium and trophoblast, occurrence of smooth muscle actin in the capillary wall forming syncytiocapillary membranes. In the intercapillary stroma of terminal villi, both fibroblasts and macrophages but not myofibroblasts were found. Since smooth muscle cells and myofibroblasts are absent, pericytes are most likely cells to contain smooth muscle actin in the area of syncytiocapillary membranes.

Key words: *placenta, placental barrier, ultrastructure, immunocytochemistry.*

Department of Morphology, RAMS Institute of Experimental Medicine, Laboratory of Nervous System Ontogenesis. RAS I.P. Pavlov Institute of Physiology, laboratory of Fetal Physiology and Pathophysiology, RAMS D.O. Ott Institute of Obstetrics and Gynecology, St. Petersburg.