

И.Р. Ижедерева, Н.Н. Голубцова и Т.Н. Охотина

СОДЕРЖАНИЕ БИОГЕННЫХ АМИНОВ В СТРУКТУРАХ ПЛАЦЕНТЫ В НОРМЕ И ПРИ АНТИФОСФОЛИПИДНОМ СИНДРОМЕ

Кафедра акушерства и гинекологии (зав. — доц. Т.Н. Охотина) Института усовершенствования врачей Минздрава и соцразвития Чувашской Республики; кафедра цитологии, эмбриологии, гистологии (зав. — проф. Л.А. Любовева) Чувашского государственного университета им. И.Н. Ульянова, г. Чебоксары, e-mail: ges@chuvashia.ru; golubnata@mail.ru

Люминесцентно-гистохимическими методами проведено исследование плаценты у 50 родильниц с нормально протекавшей беременностью и у 35 родильниц, беременность которых протекала на фоне антифосфолипидного синдрома. В плаценте дифференцированы следующие биоаминопозитивные структуры: децидуальная оболочка, соединительная ткань и кровеносные сосуды хориальной пластинки, терминальные ворсины с находящимися в них капиллярами и синцитиотрофобласт. При антифосфолипидном синдроме выявлено повышение интенсивности люминесценции гистамина, катехоламинов и серотонина в этих структурах. Особенно отчетливо было выражено нарастание интенсивности свечения гистамина.

Ключевые слова: плацента, гистамин, катехоламины, серотонин, антифосфолипидный синдром.

Антифосфолипидный синдром (АФС) продолжает оставаться одной из наиболее актуальных мультидисциплинарных проблем современной медицины, несмотря на достигнутый за почти 20 лет существенный прогресс в изучении механизмов его развития, клинических проявлений и подходов к лечению [9]. В условиях беременности наибольшему поражению при АФС подвергается развивающаяся плацента [3].

Как известно, одним из наиболее точных методов диагностики плацентарной недостаточности считается морфологический. В патоморфологических лабораториях при исследовании плаценты в основном используют методы световой микроскопии с окраской препаратов гематоксилином — эозином, аляциановым синим, ШИК-реакцию. В практической медицине не применяются люминесцентно-гистохимические методы, позволяющие сравнительно быстро оценить качественные и количественные изменения содержания серотонина, катехоламинов и гистамина в структурах плаценты. Между тем, биогенные амины играют важную роль в процессах роста и дифференцировки тканей, а также в общей регуляции метаболизма в организме, однако данные о состоянии биоаминогенной регуляции функций плаценты при АФС в литературе отсутствуют. Учитывая актуальность данной проблемы, была поставлена цель дифференцировать основные биоаминопозитивные структуры плаценты человека и изучить содержание диффузного гистамина, серотонина, катехоламинов в структурах плаценты при АФС.

Материал и методы. Обследованы 85 беременных женщин с отягощенным акушерским анамнезом с 2004 по

2006 г. Обследование и наблюдение за женщинами в течение беременности проводили в лечебно-диагностическом отделении ГУЗ «Президентский перинатальный центр» (г. Чебоксары). Роды у всех наблюдаемых женщин протекали в родильном отделении «Президентского перинатального центра» и МУЗ «Городского перинатального центра» г. Чебоксары.

Всем женщинам проводили исследования по выявлению в крови волчаночного антикоагулянта и антифосфолипидных антител (АФА). АФС был диагностирован у 35 женщин. Исход беременности прослежен у всех 85 родильниц. Диагноз АФС ставили согласно классификационным критериям, сформулированным в 1998 г. на VIII Международном симпозиуме в Саппоро (Япония): по наличию не менее 1 клинического и 1 лабораторного критериев. К клиническим критериям относили: один и более случаев внутриутробной гибели морфологически нормального плода после 10 нед беременности или 1 и более случаев преждевременных родов морфологически нормального плода до 34 нед беременности в результате преэклампсии или эклампсии, или отчетливо выраженной плацентарной недостаточности, или 3 и более последовательных случаев спонтанных аборт до 10 нед беременности. В качестве лабораторных критериев учитывали умеренное или высокое содержание АФА в крови, в двух или более исследованиях, полученных с интервалом не менее 6 нед путем стандартного иммуноферментного анализа антител к кардиолипину. Для изучения брали кусочки плацент сразу после родов в родильном зале или в операционной и замораживались при -20°C . Криостатные срезы толщиной 20 мкм высушивали на воздухе в течение 40 мин и обрабатывали гистохимическими методами на кафедре цитологии, эмбриологии и гистологии медицинского факультета Чувашского государственного университета. Исследованы плаценты двух групп родильниц: 1-я группа — 5 плацент родильниц с нормально протекавшей беременностью в возрасте от 21 до 34 лет, родивших в срок; 2-я группа — 5 плацент родильниц, беременность которых протекала на фоне АФС, в возрасте 25–39 лет, получавших лечение и доносивших беременность до 38–40 нед, с благоприятным исходом для плода.

В работе были использованы люминесцентно-гистохимические методы Кросса — Эвена — Роста для дифференци-

ровки гистамина [12] и метод Фалька — Хилларпа в модификации Е.М. Крохиной и П.Н. Александрова [5] для выявления катехоламинов и серотонина. Материал изучали с помощью люминесцентного микроскопа ЛЮАМ-ИЗ с набором светофильтров, адекватных режиму флюоресценции биогенных аминов. Цитоспектрофлюориметрию проводили при помощи фотометрической насадки ФМЭЛ-1А при выходном напряжении 600 В. Для определения интенсивности свечения использовали интерференционные фильтры: № 7 (517 нм) для определения гистамина, № 8 (525 нм) — для серотонина и фильтр № 6 (480 нм) — для катехоламинов. Интенсивность свечения биогенных аминов измеряли в условных единицах (усл. ед.) по шкале цифрового вольтметра. Проводили по 10 измерений в каждой структуре исследуемых срезов плацент при каждом методе исследования.

Все полученные цифровые данные статистически обработаны с использованием пакета компьютерных программ прикладного статистического анализа (STAT-GRAPHICS v.7.0; Statistica for Windows v.6.0). Вычисляли среднюю арифметическую, стандартную ошибку средней. Оценку статистической значимости полученных данных проводили по критерию Стьюдента.

Результаты исследования. При обработке препаратов методом Кросса — Эвена — Роста гистамин в структурах плаценты выявлялся в двух состояниях — диффузном и концентрированном. В плацентах у женщин 1-й группы (контрольной) диффузное свечение характерно для стромальных элементов децидуальной оболочки, хориальной пластинки и терминальных ворсин, но наиболее интенсивную, изумрудно-зеленую люминесценцию имели стенки кровеносных сосудов хориальной пластинки и синцитиотрофобласт. Диффузное свечение, регистрируемое в крупных сосудах, выявлялось во всех слоях их стенки.

В децидуальной оболочке наблюдалось умеренное свечение желтоватого цвета, на фоне которого выявлялись более ярко люминесцирующие гистаминсодержащие клетки. Данные клетки встречались и в стромах крупных ворсин. Часть этих клеток были округлой формы с четкими границами, другие — имели неправильную форму. В терминальных ворсинах выявлялись капилляры, по 4–6 сосудов, расположенные на периферии ворсин. В кровеносных сосудах люми-

несцировала адвентициальная оболочка, интенсивность свечения которой зависела от величины сосуда. Свечение синцитиотрофобласта было равномерным, он выявлялся в виде гомогенного слоя, окаймляющего терминальные ворсины. Соединительнотканые структуры хориальной пластинки и ворсин имели неровное свечение, в основном наблюдали люминесценцию волокон соединительной ткани.

В препаратах плацент женщин 2-й группы, обработанных методом Кросса — Эвена — Роста, выявлялись те же структуры. Однако не все терминальные ворсины были покрыты сплошным слоем синцитиотрофобласта. В этом случае он выявлялся в виде люминесцирующих глыбок. Еще одной особенностью строения и люминесценции этих плацент было отсутствие свечения стенок капилляров в некоторых терминальных ворсинах, что можно было объяснить уменьшением количества капилляров до 1–2 или полным их отсутствием.

При цитоспектрофлюориметрии плацент женщин 1-й группы обнаружено высокое содержание диффузного гистамина в стенках кровеносных сосудов хориальной пластинки, в капиллярах терминальных ворсин и в синцитиотрофобласте (таблица).

При цитоспектрофлюориметрии плацент женщин 2-й группы максимальное содержание диффузного гистамина зарегистрировано в тех же структурах (см. таблицу). У женщин 2-й группы в децидуальной ткани, хориальной пластинке, сосудах и капиллярах, синцитиотрофобласте, соединительной ткани терминальных ворсин интенсивность люминесценции гистамина выше (см. таблицу) чем в структурах плацент у женщин контрольной группы. Эти изменения были статистически значимы ($P < 0,01$) и превышали контрольные цифры в 2–3 раза.

В плацентах у женщин контрольной группы максимальное содержание катехоламинов выявлено в стенках кровеносных сосудов хориальной пластинки и в стромах децидуальной оболочки

Интенсивность люминесценции структур плаценты женщин контрольной группы и при антифосфолипидном синдроме (АФС) ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$, усл. ед)

Биогенные амины	Группы родильниц	Децидуальная оболочка	Хориальная пластинка	Кровеносные сосуды хориальной пластинки	Капилляры терминальной ворсины	Строма терминальной ворсины	Синцитиотрофобласт
Гистамин	1-я (контрольная)	87±6	83±5	130±11	134±11	80±5	146±8
	2-я с АФС	204±11	290±25	391±30	330±42	191±17	325±34
Катехоламины	1-я (контрольная)	10,7±0,7	10,0±0,4	12,5±0,6	10,6±0,8	9,5±0,6	10,3±0,8
	2-я с АФС	14,08±0,20	15,5±0,6	15,5±0,8	13,79±0,27	13,81±0,25	17,1±1,5
Серотонин	1-я (контрольная)	44,4±2,9	32,3±1,7	51±3	60±5	37,1±1,6	58,1±2,9
	2-я с АФС	52,0±2,4	61±4	66±4	48,4±2,7	45,1±2,2	71±6

(см. таблицу). В плацентах у женщин 2-й группы максимальное содержание катехоламинов было выявлено в строме хориальной пластинки, в стенках ее кровеносных сосудов и в синцитиотрофобласте (см. таблицу). Таким образом, статистически значимые увеличения интенсивности люминесценции катехоламинов отмечены в соединительной ткани ворсин в 1,5 раза, в синцитиотрофобласте — в 1,7 раза, строме хориальной пластинки — в 1,5 раза (см. таблицу), по сравнению с аналогичными показателями в контроле.

В биоаминсодержащих структурах материнской и плодной частей плацент женщин 1-й группы максимальная люминесценция серотонина определена в стенках капилляров терминальных ворсин и в синцитиотрофобласте (см. таблицу). В плацентах у женщин 2-й группы содержание серотонина было выше, чем в контрольной группе. Максимальное содержание серотонина выявлено в тех же структурах, однако в мелких сосудах терминальных ворсин интенсивность люминесценции серотонина статистически значимо была ниже в 1,2 раза (см. таблицу).

Обсуждение полученных данных. По результатам исследования, структурные компоненты и плодной, и материнской частей плаценты обладают люминесценцией и в них определяются гистамин, катехоламины, серотонин. Как было установлено, наибольшим изменениям при АФС подвержено содержание гистамина. В нашем исследовании выявлены гистамин-позитивные клетки, часть которых, возможно, являются тучными, другая — макрофагами [4]. Это предположение основано на исследованиях W.M. Purcell [13], описывавшего тучные клетки плаценты и их роль при развитии преэклампсии, данных А.В. Самойловой [8], выявившей в плаценте аминоциты, часть которых, по ее мнению, относятся к макрофагам. Выявление природы этих клеток не входило в задачу нашего исследования, так как непосредственное влияние на патогенетические механизмы развития различных акушерских осложнений оказывают свободные биогенные амины. Мы наблюдали их свечение в стромальных элементах децидуальной оболочки, хориальной пластинки, терминальных ворсин и синцитиотрофобласте.

Гистамин активно взаимодействует с иммунной системой человека. В результате исследования установлено, что при АФС интенсивность люминесценции гистамина статистически значимо выше, чем в контроле. Мы считаем, что повышенное содержание гистамина в этой ситуации является результатом аутоиммунной патологии.

При этом гистамин оказывает свое отрицательное действие на ткани плаценты, вызывая повышение проницаемости сосудов, сокращение гладкой мускулатуры, приводит к развитию плацентарной недостаточности. Однако имеет место и положительное влияние гистамина на реологические свойства крови. По данным Р. Carmeliet и соавт. [11], гистамин способен освобождать простагландин из эндотелия сосудов, в результате происходит повышение внутриклеточного синтеза тромбоцитами циклического аденозинмонофосфата, который ингибирует активацию тромбоцитов. Наши данные об отсутствии кровеносных капилляров в некоторых терминальных ворсинах и сплошного слоя синцитиотрофобласта при АФС согласуются с результатами исследований других авторов [2, 7], полученными при окраске гематоксилином — эозином.

Интенсивность люминесценции катехоламинов при АФС выше, чем при нормально протекающей беременности. Подобную закономерность наблюдали при гестозах [10]. В работе Л.А. Любовцевой [6] показано стимулирующее влияние гистамина на высвобождение серотонина и норадреналина. Это может служить одной из причин более высокого содержания катехоламинов и серотонина в плацентах у женщин, беременность которых протекала на фоне АФС. Основным источником серотонина в плаценте являются эндотелий кровеносных сосудов и тромбоциты. Снижение интенсивности люминесценции серотонина в капиллярах терминальных ворсин плаценты, возможно, связано с их тромбозом. Это перекликается с современными представлениями, согласно которым основу АФС составляет васкулопатия, обусловленная не воспалительным и/или тромботическим поражением сосудов и заканчивающаяся их окклюзией [1].

Итак, при АФС интенсивность люминесценции всех биогенных аминов в плаценте статистически значимо выше, чем при нормально протекающей беременности. При АФС происходит наибольшее повышение содержания гистамина, что может быть использовано в качестве дополнительного диагностического критерия нарушения функции плаценты.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алекберова З.С. и Решетняк Т.М. Васкулопатия у больных с системной красной волчанкой и антифосфолипидным синдромом. Тер. арх., 1995, № 5, с. 41–44.
2. Волощук И.Н. Морфологические основы и патогенез плацентарной недостаточности: Дис ... д-ра мед. наук. М., 2002.
3. Городничева Ж.А. Особенности течения гестоза у беременных с патологическим уровнем антител к мембранным фосфолипидам: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 1997.

4. Коржевский Д.Э., Отеллин В.А., Неокесарийский А.А. и Павлова Н.Г. Структурная организация макрофагов формирующейся плаценты человека. *Морфология*, 2005, т. 128, вып. 6, с. 60–62.
5. Крохина Е.М. и Александров П.Н. Симпатический (адренергический) компонент эффективной иннервации сердечной мышцы. *Кардиология*, 1969, № 3, с. 97–102.
6. Любовцева Л.А. Люминесцентно-гистохимическое исследование аминсодержащих структур костного мозга, тимуса и крови при действии нейромедиаторов и антигенов. Чебоксары, Изд-во Чувашск. ун-та, 1993.
7. Макацария А.Д., Бицадзе В.О., Гениевская М.Г. и др. Антифосфолипидный синдром в акушерской практике. М., РУССО, 2000.
8. Самойлова А.В. Акупунктура в профилактике преждевременных родов и ее влияние на биоаминное обеспечение плаценты: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Чебоксары, 1993.
9. Селиванов Е.В. Иммунные нарушения и особенности лабораторной диагностики антифосфолипидного синдрома: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Барнаул, 1998.
10. Циркин В.И., Дворянский С.А., Венедиктова С.Л. и др. Эндогенный В-адреномиметик: его содержание в организме матери и плода, и возможная роль при нормальной и осложненной беременности. В кн.: Актуальные вопросы клинической педиатрии, акушерства и гинекологии. Киров, Изд-во Кировск. ун-та, 1993, с. 349–351.
11. Carmeliet P., Moons L., Dewerchin M. et al. Insights in vessel development and vascular disorders using targeted inactivation and transfer of vascular endothelial growth factor, the tissue factor receptor, and the plasminogen system. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1997, v. 811, p. 191–206.
12. Cross S.A., Ewen S.W. and Rost F.W. A study of methods available for cytochemical localization of histamine by fluorescence induced with o-phthaldehyde or acetaldehyde. *Histochem. J.*, 1971, v. 3, № 6, p. 471–476.
13. Purcell W.M. Human placental mast cells: A role in preeclampsia? *Med. Hypoth.*, 1992, v. 39, № 3, p. 281–283.

Поступила в редакцию 09.11.06
Получена после доработки 27.09.07

BIOGENIC AMINE CONTENT IN NORMAL PLACENTAL STRUCTURES AND IN ANTIPHOSPHOLIPID SYNDROME

I.R. Izhederova, N.N. Golubtzova and T.N. Okhotina

Using the luminescent-histochemical methods, placenta was studied in 50 normal women with physiological pregnancy and in 35 patients in which the pregnancy progression was complicated by an antiphospholipid syndrome. The following bioamine-positive structures were identified in placenta: decidua, connective tissue and the blood vessels of chorionic plate, terminal villi containing capillaries, and syncytiotrophoblast. In antiphospholipid syndrome, the increase in histamine, catecholamine and serotonin luminescence intensity was detected in these structures. This increase was especially pronounced in histamine luminescence intensity.

Key words: *placenta, histamine, catecholamines, serotonin, antiphospholipid syndrome.*

Department of Obstetrics and Gynecology, Chuvash Institute for Postgraduate Medical Training; Department of Histology, Cytology and Embryology, Chuvash I.N. Ulyanov State University, Cheboksary.