

© Коллектив авторов, 2011  
УДК 618.36:618.2-055.2

А.П. Милованов<sup>1</sup>, Л.М. Ерофеева<sup>2</sup>, И.А. Золотухина<sup>2</sup> и Н.В. Александрович<sup>2</sup>

## МОРФОГЕНЕЗ ПЛАЦЕНТЫ ЧЕЛОВЕКА В I ТРИМЕСТРЕ БЕРЕМЕННОСТИ

<sup>1</sup> Лаборатория патологии женской репродуктивной системы (зав. — проф. А.П. Милованов), Научно-исследовательский институт морфологии человека РАМН, Москва; <sup>2</sup> кафедра гистологии, эмбриологии, цитологии (зав. — проф. Л.М. Ерофеева), Московский государственный медико-стоматологический университет, e-mail: a\_p\_milovanov@mail.ru, gystology@mail.ru

На основании морфометрического и иммуногистохимического изучения ворсин плаценты, полученной после лекарственных и медицинских аборт у 45 здоровых женщин, представлены новые данные о плацентации с выделением трех этапов морфогенеза плаценты. Первый этап (4-я и 5-я недели после оплодотворения) — это дифференцировка ворсинчатого хориона. Для него характерны высокая митотическая активность цитотрофобласта ворсин и интенсивный васкулогенез в их строме. Второй этап (6-я и 7-я недели) — это капилляризация ворсин (ангиогенез) и формирование сосудистых связей в подсистеме «плацента — эмбрион», функционирующей в низкоокислородном окружении. Третий этап (8-я и 9–10-я недели) — это становление сосудистого русла в подсистеме «мать — плацента» и начало более эффективного гемохориального обмена эмбриона и плода. В итоге плацентации завершается формирование гемодинамики в системе «мать — плацента — эмбрион» как необходимое условие дальнейшего развития плода.

**Ключевые слова:** плацента человека, морфогенез, эпителий, васкулогенез, ангиогенез

Плацента человека — важный промежуточный элемент в системе «мать — плацента — эмбрион — плод». Ее морфогенез начинается с 12–14-х суток после оплодотворения с появлением первичных ворсин (трофобластических), переходящих во вторичные (имеющие мезенхимальную основу) и в третичные (содержащих сосуды). Он заканчивается в конце I триместра физиологической беременности. Плацента является уникальным объектом для изучения морфогенеза внезародышевых структур, поскольку в ее развитии тесно сопряжены процессы дифференцировки покровного эпителия (синцитио- и цитотрофобласт), мезенхимальной стромы (васкуло- и ангиогенез), возникновения сосудистых связей, влияющих на формирование зародыша. Однако эти важнейшие формообразующие механизмы изучены фрагментарно, без их взаимосвязи и обобщающей концепции. Так, подробно исследована ультраструктура развивающегося эпителия ворсин [3, 11], преобразование мезенхимы стромы [12], особенности васкулогенеза, включая их молекулярную регуляцию [5–8, 13]. Вместе с тем, в реальных условиях морфогенез ворсин определяется эпителиально-стромально-сосудистыми отношениями, которые, в свою очередь, тесно связаны с хронологией роста эмбриона.

Цель настоящего исследования — комплексная оценка морфофункциональных связей развивающихся эпителия, стромы, капилляров ворсин плаценты понедельно, в течение I триместра нормальной беременности с точной датировкой роста эмбриона и плода.

Материал и методы. Исследован материал 45 случаев ранних лекарственных (препарат «Мифегин», Exelgyn, Франция) и инструментальных аборт (кюретаж полости матки) у здоровых женщин, прервавших беременность, который получали из Люберецкого родильного дома (г. Люберцы, Московской обл.) с мая 2007 г. по май 2008 г. Продолжительность беременности уточняли по данным УЗИ (размеры эмбриона) и менструальному сроку — минус 2 нед. Для хронологии развития эмбрионов использована Международная классификация Карнеги [2], включающая 23 сомитные и постсомитные стадии. После ранних абортов исследованы целые хориальные мешки или их фрагменты (4-я неделя — 10; 5-я неделя — 7 объектов), а также кюретажный материал (6-я неделя — 7; 7-я неделя — 5; 8-я неделя — 8; 9–10-я неделя — 8 объектов). Хориальные мешки фиксировали 10% раствором нейтрального формалина и целиком заливали в парафин. Из кюретажа выделяли зернистоподобные массы — ворсины плаценты. Срезы толщиной 5–6 мкм окрашивали гематоксилином–эозином. Готовили дополнительные срезы, которые после депарафинирования обрабатывали по стандартной схеме антителами к CD34 (маркер эндотелия) и Ki-67 (маркер пролиферации) (производитель «Novocastra», Vision BioSystems Ltd., Австралия), выявленные с помощью системы детекции пероксидазы хрена/диаминобензидин. С помощью микроскопа Leica DM 2500, с цифровой фотокамерой (Leica Microsystems GmbH, Германия) получали изображения ворсин на экране компьютера при ув. 100. Используя программу Image score, проводили морфометрию ворсин округлой или овальной формы (кроме крупных опорных ветвей). Определяли площадь сечения отдельных ворсин: 1) по внешнему контуру эпителиального покрова; 2) по внутреннему его контуру — площадь, занимаемую стромой; 3) по их разнице — площадь, занимаемая эпителием. Исследовали около 100 ворсин в каждую неделю беременности. Выборочно на препаратах с иммуноэкспрессией CD34 рассчитывали площадь, занимаемую ангиобластами и эндотелиоцитами капилляров, без учета просветов, с вычислением ее доли по отношению к строме. Все количественные данные обработаны статистиче-

скими методами (критерии сравнения Стьюдента и Манна — Уитни).

**Результаты исследования.** 4-я неделя соответствовала 10-, 11- и 12-сомитным стадиям развития эмбриона. По окружностям хориальных мешков были видны равномерно расположенные мелкие ворсины, имеющие 2–3 генерации ветвлений (рисунок, а) с толстым эпителием, включающим поверхностный слой синцитиотрофобласта и внутренний, сплошной слой цитотрофобласта на тонкой базальной мембране. Их строма состояла из рыхло расположенных мезенхимальных клеток, т.е. по общей структуре они соответствовали вторичным, или мезенхимальным, ворсинам. В дистальных концах таких ворсин были видны остатки клеточных колонн в виде сплошных участков цитотрофобласта без синцитиального покрытия. Для мезенхимальных ворсин характерны минимальные значения общей площади их сечения и стромы при относительно большой площади, занимаемой эпителием (таблица).

Типичная особенность эпителия ворсин в ранний срок гестации — большое количество митотически делящихся клеток цитотрофобласта, выявленных как на обычных препаратах, так и с помощью иммуногистохимической реакции на Ki-67; это касалось всех ворсин в окружности хориальных мешков. Иммуноэкспрессия CD34 проявлялась в виде отдельных скоплений ангиобластов, без внутреннего просвета, либо нитеобразных тяжей с узкими, пустыми просветами (см. рисунок, б). Однако в отдельных ворсинах были видны кольцевидные эндотелиоциты с небольшим просветом и с редкими ядерными формами эритроцитов (эритробласты), т.е. первичные, изолированные капилляры, однако, средняя площадь, занимаемая ангиобластами и эндоте-

лиоцитами, составила всего  $9,7 \pm 0,4\%$  от площади сечения стромы ворсин.

5-я неделя (13-, 14-я постсомитные стадии) характеризовалась начальной дифференцировкой ворсин по сегментам хориальных мешков. Одни из них сохраняли прежнее число ответвлений, но с уменьшением содержания цитотрофобласта, хотя в отдельных его клетках определялись фигуры митозы. Как и на 4-й неделе выявлялись изолированные ангиобласты и узкие, первичные капилляры (будущий гладкий хорион — *chorion laeve*). На противоположной стороне хориальных мешков ворсины увеличивались в длину и приобретали большое количество боковых ветвей, что сопровождалось высокой пролиферативной активностью их цитотрофобласта (см. рисунок, в). Данные ворсины относились к ворсинчатому хориону (*chorion frondosum*), т.е. к ранней плаценте. Они отличались значимым увеличением общей площади их сечения и стромы при сохранении аналогичного показателя эпителия (см. таблицу). Новыми структурными элементами, указывающими на развитие этих ворсин в сторону васкулярных форм, стали расширение просветов между ангиобластами, прирост числа эритробластов, появление первых капилляров. Однако тяжи ангиобластов и капилляры были малочисленны и изолированы друг от друга. Это подтвердилось небольшим увеличением доли сосудов ( $10,8 \pm 0,9\%$ ) по отношению к площади сечения стромы по сравнению с таковой на предыдущей — 4-й неделе беременности.

6-я неделя (15–16-я постсомитные стадии эмбриона) характеризовалась слабой тенденцией к дальнейшему росту площади сечения ворсин, стабилизацией площади стромы и эпителия (см. таблицу). Однако на микропрепаратах была видна существенная перестройка эпителия за счет увеличения доли синцитиотрофобласта и явной

**Характеристика ворсин плаценты в I триместре беременности ( $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ )**

| Исследованные параметры                    | Срок беременности, нед |                     |                   |                     |                    |                     |
|--------------------------------------------|------------------------|---------------------|-------------------|---------------------|--------------------|---------------------|
|                                            | 4-я                    | 5-я                 | 6-я               | 7-я                 | 8-я                | 9–10-я              |
| Площадь, мкм <sup>2</sup> :                |                        |                     |                   |                     |                    |                     |
| ворсины по внешнему контуру эпителия       | 16 182 $\pm$ 1011      | 19 529 $\pm$ 1966** | 21 024 $\pm$ 2253 | 20 090 $\pm$ 2946   | 35 751 $\pm$ 4144* | 36 633 $\pm$ 3635** |
| занимаемая стромой ворсины                 | 11 111 $\pm$ 751       | 16 146 $\pm$ 1701** | 16 120 $\pm$ 1949 | 15 109 $\pm$ 2320** | 28 453 $\pm$ 3555* | 29 199 $\pm$ 3098** |
| занимаемая эпителием ворсины               | 5071 $\pm$ 287         | 4972 $\pm$ 320      | 4904 $\pm$ 342    | 4971 $\pm$ 648      | 7297 $\pm$ 657*    | 7379 $\pm$ 573      |
| занимаемая ангиобластами и эндотелиоцитами | 784 $\pm$ 70           | 1860 $\pm$ 278*     | 1957 $\pm$ 311    | 2537 $\pm$ 324**    | 3134 $\pm$ 417**   | 3600 $\pm$ 386**    |

\* Различия по сравнению с показателями предыдущего срока исследования значимы при  $P < 0,001$ ; \*\* при  $P < 0,05$ .

редукции цитотрофобласта, который сохранялся лишь как прерывистый слой мелких клеток на тонкой базальной мембране с единичными фигурами митоза. В строме большинства ворсин продолжалось увеличение числа сформированных капилляров и соединений между ними. Эти сосудистые мостики возникали уже путем почкования от базовых капилляров (см. рисунок, г). В их просветах, помимо эритробластов, выявлялись первые безъядерные эритроциты. Доля суммарной площади, занимаемой ангиобластами и эндотелиоцитами по отношению к площади сечения ворсин, возросла незначительно ( $12,1 \pm 0,9\%$ ), вероятно, в связи с особенностями кюретажного материала, в котором нет возможности выделить ворсины, относящиеся к ранней плаценте.

На 7-й неделе (17-, 18-е и 19-е постсомитные стадии) по исследованным параметрам ворсины мало отличались от таковых на 6-й неделе (см. таблицу). Происходила аналогичная перестройка эпителия ворсин за счет уменьшения доли цитотрофобласта. Наибольшие изменения заключались в быстро формирующейся капиллярной сети и в увеличении её просветов, где примерно 50% составили типичные эритроциты при явном уменьшении числа эритробластов (см. рисунок, д). Анализ иммуноэкспрессии CD34 подтвердил прирост площади, занимаемой ангиобластами и эндотелиоцитами капилляров ( $16,7 \pm 1,2\%$ ).

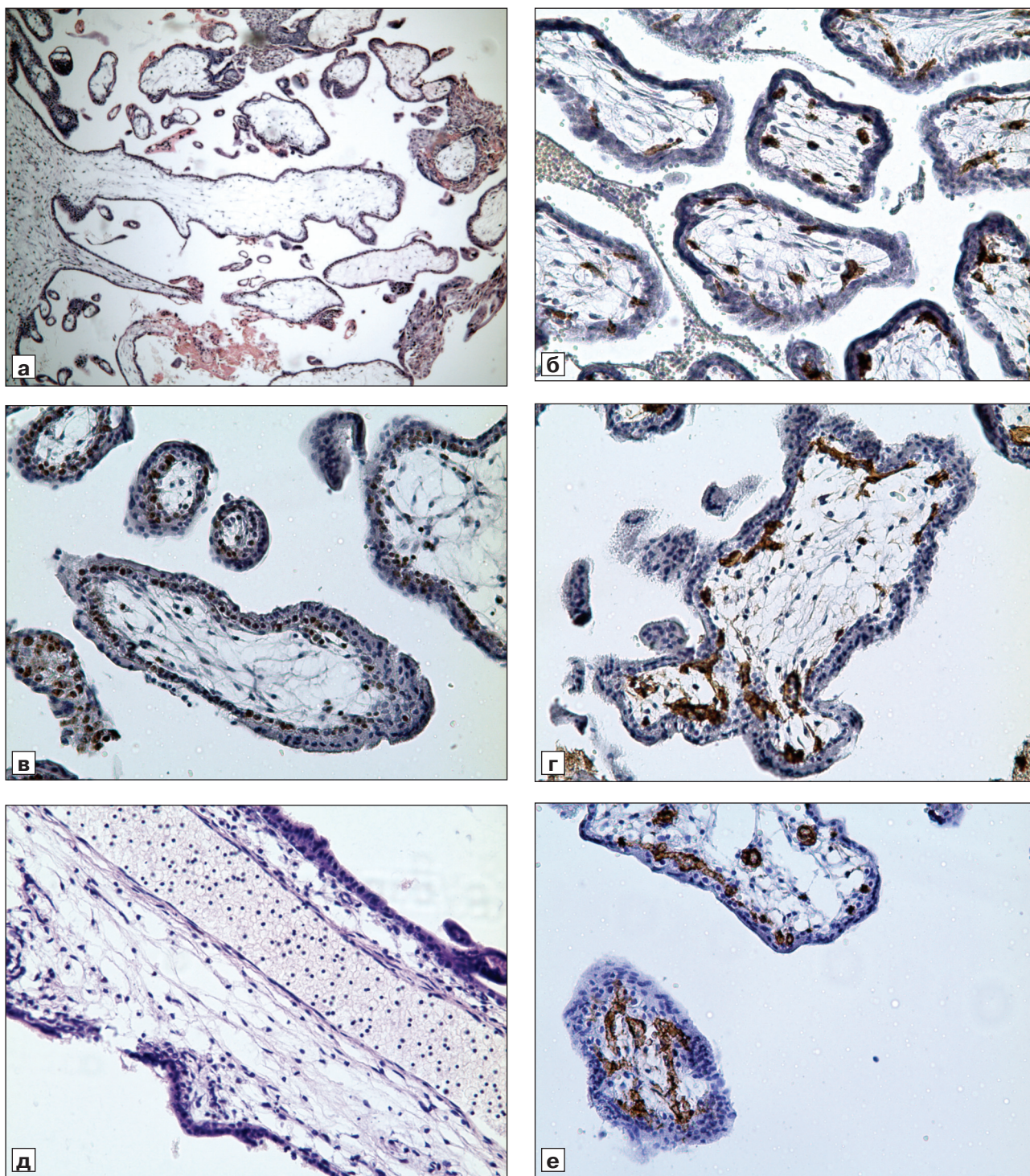
8-я неделя (20-, 21-, 22-я и 23-я постсомитные стадии, завершение эмбрионального периода) — рубежный период в морфогенезе плаценты, поскольку по сравнению с 7-й неделей значимо возросли все морфометрические параметры ворсин (см. таблицу). Так, на 178% увеличилась общая площадь сечения ворсин за счет их фестончатых очертаний и синцитиальных почек; почти в 2 раза стал толще эпителий вследствие увеличения площади, занимаемой синцитиотрофобластом и его поверхностным слоем микроворсинок — щеточной каймой. Площадь стромы ворсин увеличилась, главным образом, за счет капиллярной сети, при этом отмечена явная тенденция приближения капилляров вплотную к эпителиальному покрову. В просветах капилляров доминировали типичные эритроциты при единичных эритроблестах. Суммарная площадь эндотелиоцитов капиллярной сети существенно возросла (см. таблицу) за счет прироста боковых и соединительных ветвей. Однако в связи со значительным увеличением площади сечения стромы и эпителия ворсин доля площади, занимаемой эндотелиоцитами (без учета величины просветов капилляров), напротив, уменьшалась до  $11,0 \pm 0,8\%$ .

9–10-я неделя (начало плодного периода) характеризовались сохранением той перестройки ворсин, которая происходила на 8-й неделе: были

выявлены максимальные значения площади сечения ворсин, их стромы и эпителиального покрова (см. таблицу). В капиллярном русле произошло продвижение его элементов ближе к эпителию. Практически исчезли ангиобластические узелки и тяжи; все соединительные ветви были представлены полноценными капиллярами (см. рисунок, е), но доля суммарной площади, занимаемой эндотелиоцитами, стала минимальной ( $10,7 \pm 0,7\%$ ) по отношению к увеличившейся площади сечения стромы ворсин, поскольку не учтены просветы капилляров, как и на 8-й неделе гестации. В целом, эпителиально-стромально-капиллярные соотношения стабилизировались, характеризуя завершение плацентации.

Обсуждение полученных данных. Развитие плаценты, как важного элемента в системе «мать — плацента — эмбрион», тесно связано с материнским организмом, в частности, с маткой и трансформацией её сосудов, и с потребностями эмбриона. По современным представлениям [4, 9, 10], до 8-й недели плацента и эмбрион развиваются в низкокислородном окружении. Так, эти авторы в межворсинчатом пространстве регистрировали напряжение кислорода порядка 15–20 мм вод. ст., в то время как в сосудах окружающего эндометрия оно было в 2 раза выше. Первые порции артериальной крови в плаценте были зарегистрированы современными эхосканерами начиная с 8-й недели нормальной беременности [9, 14]. С этого времени бывший ранее анаэробный тип питания эмбриона трансформировался в гемохориальный. В этой связи анализ представленных морфометрических показателей ворсин позволяет разделить плацентацию на 3 этапа. Первый этап (4–5-я неделя), когда из равномерно расположенных ворсин по окружности хориального мешка начинают формироваться две части — гладкий хорион и ворсинчатый хорион, входящий в состав ранней плаценты. При высокой пролиферативной активности цитотрофобласта — камбиального для растущего синцитиотрофобласта [3] в мезенхимальной строме начинался васкулогенез, т.е. формирование первичных капилляров *in situ* из несосудистых гемопоэтических клеток — ангиобластов, а также первых элементов крови — эритробластов (ядерных эритроцитов). Другими авторами этот процесс отмечен в ворсинах раньше, на 21–22-е сутки [3, 6, 8].

По нашим данным, васкулогенез осуществляется во всех ворсинах, окружающих хориальный мешок, но в дальнейшем он происходит только в зоне ворсинчатого хориона (ранней плаценты). В это время в эмбрионе уже функционирует желточно-эмбриональное кровообращение с циркуляцией эритробластов, образованных в первич-



Компоненты ворсин плаценты в I триместре нормальной беременности.

а — 4-я неделя, ворсины, отходящие от стенки хориального мешка (слева); б — 4-я неделя, начало васкулогенеза: скопления и изолированные тяжи ангиобластов; в — 5-я неделя, множественные фигуры митоза в цитотрофобласте ворсин; г — 6-я неделя, формирование первичной сети капилляров за счет ангиогенеза; д — 7-я неделя, в просвете сосуда эритробласты и «кольца» типичных эритроцитов; е — 9-я неделя, густая капиллярная сеть. а, д — окраска гематоксилином-эозином; б, г, е — иммуногистохимическая реакция на CD34; в — иммуногистохимическая реакция на Ki-67. Ув.: а — 50; б-е — 200.

ном месте кроветворения — стенке желточного мешка [1, 2].

Второй этап (6-я и 7-я неделя) — это интенсивное развитие собственно плаценты за счет увеличения длины и ветвления ворсин при относи-

тельном постоянстве эпителиально-стромальных отношений и быстром росте капиллярной сети вследствие ангиогенеза, т.е. путем почкования предсуществующего капилляра. Адекватное развитие капиллярной сети в стенке хориального

мешка (будущая хориальная пластинка) и пуповине приводит к соединению с сосудистым руслом эмбриона. Это подтверждается обнаружением первых типичных безъядерных эритроцитов в капиллярах ворсин (которые встречаются в небольшом количестве на 6-й неделе и составляют порядка 50% от всех элементов крови — на 7-й неделе), поскольку эти эритроциты образуются в очагах кроветворения в печени эмбриона [1]. Иными словами, на этом этапе в репродуктивной системе сформирована циркуляторная сеть между плацентой и эмбрионом.

Третий этап (8-, 9-я и 10-я неделя) — это время интенсивного органогенеза эмбриона и плода, что возможно лишь в условиях более эффективно-го гемохориального обмена, который начинает функционировать с 8-й недели, когда из маточно-плацентарных артерий поступают первые порции материнской крови с напряжением кислорода около 60 мм вод. ст. Возникает необходимость в новых эпителиально-стромально-сосудистых отношениях в ворсинах. Резко возрастает протяженность и площадь, занимаемая эпителием, за счет боковых выпячиваний, увеличения объема цитоплазмы и ядер синцитиотрофобласта — основного продуцента плацентарных гормонов и белков [3]. Кроме того, приближение капилляров к эпителиальному покрову значительно увеличивает диффузионную способность ворсин — главного компонента гемохориального обмена [1].

Таким образом, морфогенез плацентации в I триместре физиологической беременности не является изолированным процессом, напротив, в развивающихся ворсинах отмечаются тесные эпителиально-стромально-сосудистые отношения, которые определяются меняющимися условиями микроокружения эмбриона: от низкоокислородной среды и анаэробного метаболизма к высокоэффективному гемохориальному обмену.

В итоге плацентации завершается формирование системы «мать — плацента — эмбрион — плод», как необходимое условие для дальнейшего органогенеза и полноценного развития плода.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Милованов А.П. Патология системы мать—плацента—плод. М., Медицина, 1999.
2. Милованов А.П. и Савельев С.В. Внутриутробное развитие человека. М., Медицина для всех, 2006.
3. Benirschke K. and Kaufmann P. Pathology of Human placenta. New York, Springer-Verlag, 1995.
4. Burton G.J. Oxygen, the Janus gas; its effects on human placental development and function. J. Anat., 2009, v. 215, № 1, p. 27–35.
5. Charnock-Jones D.S. and Burton G.J. Placental vascular morphogenesis. Baillier's Clin. Obst. Gynecol., 2000, v. 14, № 6, p. 953–968.
6. Charnock-Jones D.S., Kaufmann P. and Mayhew T.M. Aspects of human fetoplacental vasculogenesis and angiogenesis. Placenta, 2004, v. 25, p. 103–113.
7. Demir R., Kayisli U.A., Cayli S. and Huppertz B. Sequential steps during vasculogenesis and angiogenesis in the very early human placenta. Placenta, 2006, v. 27, p. 535–549.
8. Demir R., Seval Y. and Huppertz B. Vasculogenesis and angiogenesis in the early human placenta. Acta Histochem., 2007, v. 109, p. 257–265.
9. Jauniaux E., Hempstock J., Greenwold N. and Burton G.J. Trophoblastic oxidative stress in maternal placental blood flow in normal and abnormal early pregnancies. Amer. J. Pathol., 2003, v. 162, № 1, p. 115–122.
10. Jauniaux E., Watson A. and Burton G.J. Evaluation of respiratory gases and acid-base gradients in human fluids and uteroplacental tissue between 7 and 16 weeks gestation. Amer. J. Obst. Gynecol., 2001, v. 184, № 5, p. 998–1003.
11. Jones C.J.P. and Fox H. Ultrastructure of the normal human placenta. Electron Microscop Rev., 1991, v. 4, p. 129–178.
12. Kingdom J., Huppertz B., Seaward G. and Kaufmann P. Development of the placental villous tree and its consequences for fetal growth. Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol., 2000, v. 92, № 1, p. 35–43.
13. Lisman B.A., Van den Hoff M.J., Alcazar J.L. et al. The architecture of first trimester chorionic villous vascularization and early pregnancy loss assessed by 3-dimensional power Doppler angiography. Hum. Reprod., 2007, v. 22, № 8, p. 254–260.
14. Merce L.T., Barco M.J., Boer K. et al. Intervillous and uteroplacental circulation in normal early pregnancy: a confocal laser scanning microscopical study. Amer. J. Obst. Gynecol., 2009, v. 200, № 3, p. 315–320.

Поступила в редакцию 13.11.10

Получена после доработки 29.12.10

#### MORPHOGENESIS OF HUMAN PLACENTA IN THE FIRST TRIMESTER OF GESTATION

A.P. Milovanov, L.M. Yerofeyeva, I.A. Zolotukhina and N.V. Aleksandrovich

On the basis of morphometric and immunohistochemical study of placental villi obtained from 45 cases of medicinal and medical abortions in healthy women, the new data on placentation are presented with the discrimination of three stages of placental morphogenesis. The first stage (weeks 4 and 5 after fertilization) included a differentiation of villous chorion (chorion frondosum). It was characterized by high mitotic activity of villous cytotrophoblast and intensive vasculogenesis in the villous stroma. The second stage (weeks 6 and 7) included capillary development (angiogenesis) and formation of vascular communications within a «placenta–embryo» subsystem functioning in low-oxygen level environment. The third stage (weeks 8 and 9–10) was characterized by vascular bed formation in «mother–placenta» subsystem and by the beginning of more effective hemochorial embryo and fetal metabolism. As a result of placentation, hemodynamics formation in «mother–placenta–embryo» system was completed, which is a necessary condition for further fetal development.

**Key words:** human placenta, morphogenesis, epithelium, vasculogenesis, angiogenesis

Laboratory of Female Reproductive System Pathology, RAMS Institute of Morphology, Moscow. Department of Histology, Cytology and Embryology, Moscow State Medico-Stomatological University