

АКУШЕРСТВО І ГІНЕКОЛОГІЯ

УДК 618.36.611-03/04:616.97

*Т.М. Аношина**Український державний інститут репродуктології НМАПО ім. П.Л. Шупика, м. Київ***МАРКЕРИ СУДИННИХ ПОРУШЕНЬ В ПЛАЦЕНТІ
ПРИ ВІЛ-АСОЦІЙОВАНІЙ ГЕРПЕСВІРУСНІЙ ІНФЕКЦІЇ**

Як ВІЛ, так герпесвірусна інфекція (ГВІ) супроводжуються високою частотою плацентарної дисфункції. Досліджено 10 плацент від жінок з ВІЛ і ГВІ та 10 – від жінок з фізіологічним перебігом вагітності. У більшості плацент від жінок з ВІЛ і ГВІ відмічаються прояви субкомпенсованої плацентарної дисфункції з вираженими в різній мірі неспецифічними інволютивно-дистрофічними змінами і гострими циркуляторними розладами. Виявлено зміни в синцитіотрофобласті, клітинах строми і децидуальних клітинах та васкулопатії з утворенням тромбів, що вказує на ушкодження ендотелію судин, які підтверджено встановленою імуногістохімічно позитивною експресією СД31 і фактора Віллебранта.

Ключові слова: ВІЛ, герпесвірусна інфекція, плацента, СД31, фактор Віллебранта.

Судинні зміни, що супроводжують вагітність у інфікованої жінки і призводять до порушення функцій плаценти, є однією з основних причин акушерської та перинатальної патології [1].

Частота плацентарної недостатності при ВІЛ-інфекції досягає 50–60 %. Навіть безсимптомне носійство ВІЛ у вагітної може супроводжуватися вираженою плацентарною недостатністю, яка сприяє інфікуванню, а іноді й загибелі плода. Ризик трансплацентарної перинатальної трансмісії ВІЛ зростає за наявності ознак плацентарної недостатності і запальних процесів у плаценті [2, 3].

Серед ВІЛ-інфікованих вагітних особливе місце посідають жінки з герпетичною інфекцією, яка є одним з найпоширеніших опортуністичних захворювань при ВІЛ [4]. Герпесвіруси можуть проникати через плаценту в плід і спричиняти тяжкі ураження плода та новонародженого, підвищуючи ризик вертикальної трансмісії ВІЛ [5]. Багатьма дослідженнями показано, що практично у всіх випадках герпесвірусної інфекції (ГВІ) констатується субкомпенсована і некомпенсована хронічна плацентарна недостатність з важкими інволютивно-дистрофічними, вірусними ураженнями [6].

© Т.М. Аношина, 2016

Сучасні дані свідчать про значну роль судинно-ендотеліальних факторів у процесах ангіогенезу плаценти, їх вплив на функціональну активність трофобласта, формування плацентарної недостатності [7, 8]. Підвищення адгезивності має велике значення в патогенезі дисфункції ендотелію при запаленні та інших патологічних процесах. СД31 (PECAM-1) – фактор адгезії тромбоцитів до ендотелію (platelet endothelial cell adhesion molecule) – молекула адгезії, яку відносять до сімейства імуноглобулінів. У фізіологічних умовах ендотеліальні клітини не експресують молекули адгезії, збільшення їх концентрації на поверхні клітини виникає при дії різних ушкоджуючих факторів. PECAM-1 відіграє важливу роль у підтримці судинного бар'єра [9]. Він в основному експресується судинними клітинами і вважається важливим імуногістохімічним маркером стану ангіогенезу кровоносних судин, зокрема при ембріональному розвитку. PECAM-1 також виявляється на тромбоцитах, моноцитах, нейтрофілах і CD8⁺ Т-клітинах. Недавні дослідження підтверджують участь PECAM-1 в запальних процесах і взаємодії лейкоцитів з ендотеліальними клітинами [10, 11].

У фізіологічних умовах ендотелій судин продукує велику кількість біологічно активних факторів, що пов'язані з порушенням судинного тону та проникності судин. Однією з таких речовин є фактор Віллебранта. У випадку ушкодження ендотелію звільнення фактора Віллебранта збільшується, що дає можливість використовувати його як маркер ендотеліальної дисфункції, порушення процесів ангіогенезу [12, 13]. Деякими дослідженнями останніх років показана роль PECAM-1 та фактора Віллебранта у виникненні прееклампсії [14, 15].

Мета даного дослідження – визначити морфологічні та імуногістохімічні особливості структур плаценти при ВІЛ-асоційованій герпесвірусній інфекції.

Матеріал і методи. Досліджено 20 плацент жінок, які розподілено на дві групи: 1-ша – 10 плацент жінок з ВІЛ та ГВІ, 2-га – 10 плацент жінок з фізіологічним перебігом вагітності (контроль).

Використані наступні методи:

органометричний – включає вимірювання маси плаценти, її розмірів (максимальний та мінімальний діаметр, максимальна та мінімальна товщина), діаметр і товщину пупкового канатика, а також плацентарно-плодовий коефіцієнт;

макроскопічний – вивчався за 32 стигмами. Це цілісність тканин плаценти, її реконструкція, форма материнської та плодової поверхні, пупкового канатика;

загальногістологічний – проводили за стандартною схемою. Матеріал обробляли в парафіновій заливці, зрізи забарвлювали гематоксилін-еозином і пікрофуксином за ван Гізона;

імуногістохімічний – непрямий стрептавідин-пероксидазний метод виявлення рівня експресії CD 31 і фактора Віллебранта.

Протокол забарвлення: депарафінізація і зневоднення тканини, промивання буфером, обробка скла в Nuyogen Peroxide Block протягом 10 хв, промивання буфером, нанесення реагенту Ultra V block і інкубування протягом 5 хв. При кімнатній температурі промивання і нанесення первинних антитіл фірми Thermo, інкубація в залежності від протоколу виробника, промивання буфером, нанесення Primary Antibody Amplifier Quanto і інкубація протягом 10 хв. При кімнатній температурі промивання буфером, нанесення HRP Polymer Quanto і інкубація протягом 10 хв. При кімнатній температурі промивання буфером,

добавляння 1 краплі (30 мл) DAB Chromogen Quanto к 1 мл DAB Substrate Quanto, перемішування і нанесення на зріз, інкубація протягом 5 хв. В залежності від потрібного забарвлення промивання дистильованою водою 4 рази.

Розповсюдженість і інтенсивність реакції оцінювали напівкількісним методом в балах, від 0 до 3 балів (розповсюдженість: 0 – немає забарвлення; 1 – менше 10 % позитивно забарвлених клітин; 2 – більше 10 і менше 50 % позитивно забарвлених клітин; 3 – гомогенне забарвлення більше 50 % клітин; інтенсивність реакції: 0 – немає видимого забарвлення; 1 – слабке забарвлення; 2 – помірне; 3 – виразне).

Отримані дані статистично обробили.

Результати та їх обговорення. При асоціації ВІЛ та ГВІ відмічалось збільшення маси плацент до $(550 \pm 16,5)$ г, контроль – $(450 \pm 13,5)$ г ($p < 0,05$), що обумовлено переважно повнокров'ям венозних судин ворсин.

Плаценти здебільшого овальної форми, у чотирьох спостереженнях – неправильної. Ще у чотирьох спостереженнях плацента оточена обідком. Забарвлення плодової поверхні в більшості плацент сірувато-біле, у 40 % спостережень відмічався жовтуватий або зеленуватий відтінок, набряк і дрібні, вогнищеві ущільнення в крайових зонах плодової поверхні.

У більшості плацент борозни на материнській поверхні плаценти переважно неглибокі, з наявністю різних за розміром ішемічних інфарктів, розташованих переважно в парацентральної та крайовій зонах. У 40 % плацент виявлені кісти розмірами від $0,2 \times 0,2$ до $1,0 - 0,5$ см, переважно в центральній і парацентральної зонах. У більшості досліджень відмічено помірне повнокров'я тканини плаценти.

Пуповина в 70 % з помірним набряком, у двох спостереженнях виявлені несправжні вузли пуповини, у трьох – несправжні, однобічні кісти пуповини (із-за виразного набряку).

При гістологічному дослідженні в оболонці амніона в п'яти спостереженнях відмічено явища парієтального децидуїту, з запальною інфільтрацією, яка локалізується в межах децидуального шару і шару цитотрофобласта. Межею розповсюдження запального інфільтрата є псевдобазальна мембрана. В трьох спостереженнях в плідній оболонці у цитотрофобласті амніотичної обо-

лонки виявлені у значній кількості атрофічні ворсини різного калібру і розташування. Епітелій та судини в них відсутні. У децидуальному шарі відмічаються ділянки набряку та повнокров'я судин з виразними дистрофічними змінами децидуальних клітин, частина з них з явищами апоптозу і апонекрозу. Сполучнотканинні волокна хоріонічної пластинки нерівномірної щільності. У п'яти спостереженнях вени з розширеним просвітом, повнокровні, артерії з валикоподібним потовщенням стінки, особливо в периферійних ділянках плаценти, малокровні.

У 50 % досліджень пуповини виявлено однотипну картину вогнищового набряку вартонових драглів з утворенням великих порожнин. У 30 % плацент переважали артерії зі звуженим просвітом і гіпертрофією внутрішнього шару гладких м'язів, вени пуповини з екстазією просвіту, іноді з тромбами.

Характерними для герпетичної інфекції змінами в плаценті ВІЛ-інфікованих жінок є продуктивне запалення у ворсинчастому хоріоні і міжворсинчастому просторі, запалення внутрішньої оболонки судин стовбурових і проміжних ворсин, гігантоклітинний метаморфоз клітин синцитіотрофобласта з наявністю в ядрах клітин внутрішньоклітинних включень. Продуктивне запалення в стінках стовбурових, середнього калібру та термінальних ворсин призводило до звуження та облітерації прозору судин. У 10 % плацент ці зміни співпадали з виразною затримкою розвитку плаценти, склерозом великої кількості ворсин і зниженням рівня компенсаторних реакцій. У 30 % плацент відмічалися ділянки патологічного варіанта незрілості ворсинчастого дерева за типом хаотично склерозованих ворсин, який характеризується наявністю дрібних гіповаскуляризованих ворсин, з поодинокими, вузькими капілярами, без плодкових еритроцитів (рис. 1, а). Цим пояснюється зменшення типових синцитіокапілярних мембран і компенсаторного ангіоматозу в цих плацентах. Аvasкулярні, хаотичні дрібні ворсини розташовані нерівномірно і перемежуються в плацентарній тканині з типовими термінальними ворсинами.

При цитомегаловірусній інфекції відмічено порушення плацентарної циркуляції на тлі запальних змін у вигляді амніоніту оболонки та хоріальної пластинки плаценти, парістального та базального децидуїту, васкуліту опорних ворсин, артеріїту і флебіту

пупочних судин, фунікуліту з інтенсивною лейкоцитарною та плазмоцитарною інфільтрацією.

Результатом дії вірусів при цитомегаловірусній інфекції є склеротичні процеси в плаценті (варіант незрілості по типу хаотично склерозованих ворсин), які призводять до зменшення кількості синцитіокапілярних мембран, порушення плацентарно-плодового кровообігу.

У 50 % досліджень спостерігався відносний варіант незрілості за типом дисоціюваного розвитку котиледонів, для якого характерним є нерівномірне дозрівання ворсин як у сусідніх ділянках плацентарної тканини, так і в межах різних котиледонів, поряд з нормальними термінальними ворсинами в зрізах зустрічаються зони проміжних диференційованих чи незрілих ворсин, з переважанням ворсин, які відповідають терміну гестації.

В окремих опорних ворсинах плацент цієї групи дослідження відмічалась повна облітерація артерій і артеріол з характерною патологією поблизу розташованих ворсин, які повністю були замурувані у фібриноід. У таких ділянках епітелій ворсин був відсутній повністю чи частково (рис. 1, б). Ці ділянки замуруваних фібриноїдом ворсин виникають внаслідок первинного припинення кровообігу в судинах ворсин, вони виключені з міжворсинчастого кровообігу і являють собою ділянку патологічної реакції з важливим вкладом в хронічну плацентарну недостатність.

У 50 % плацент відмічено ділянки, де переважають ворсини з потоншеним епітелієм, або він зовсім відсутній в зонах зближених ворсин, які з'єднуються між собою синцитіальними містками – «афункціональні зони» (рис. 1, в).

У 30 % спостережень відмічено інтервілузит – запальні зміни в міжворсинчастому просторі, вогнищового характеру, а також розповсюджені вогнища крововиливів (рис. 1, г).

У стромі та синцитії в 80 % спостережень в частині ворсин на тлі виразного повнокров'я судин і набряку стромі відмічалось збільшення клітин за рахунок крупних, світлих ядер, переважно неправильної форми (рис. 1, д).

У 50 % плацент, окрім виразного повнокров'я судин, відмічається і їх тромбоз, а також збільшення кількості фібриноїду і вогнищ крововиливів у міжворсинчастому просторі.

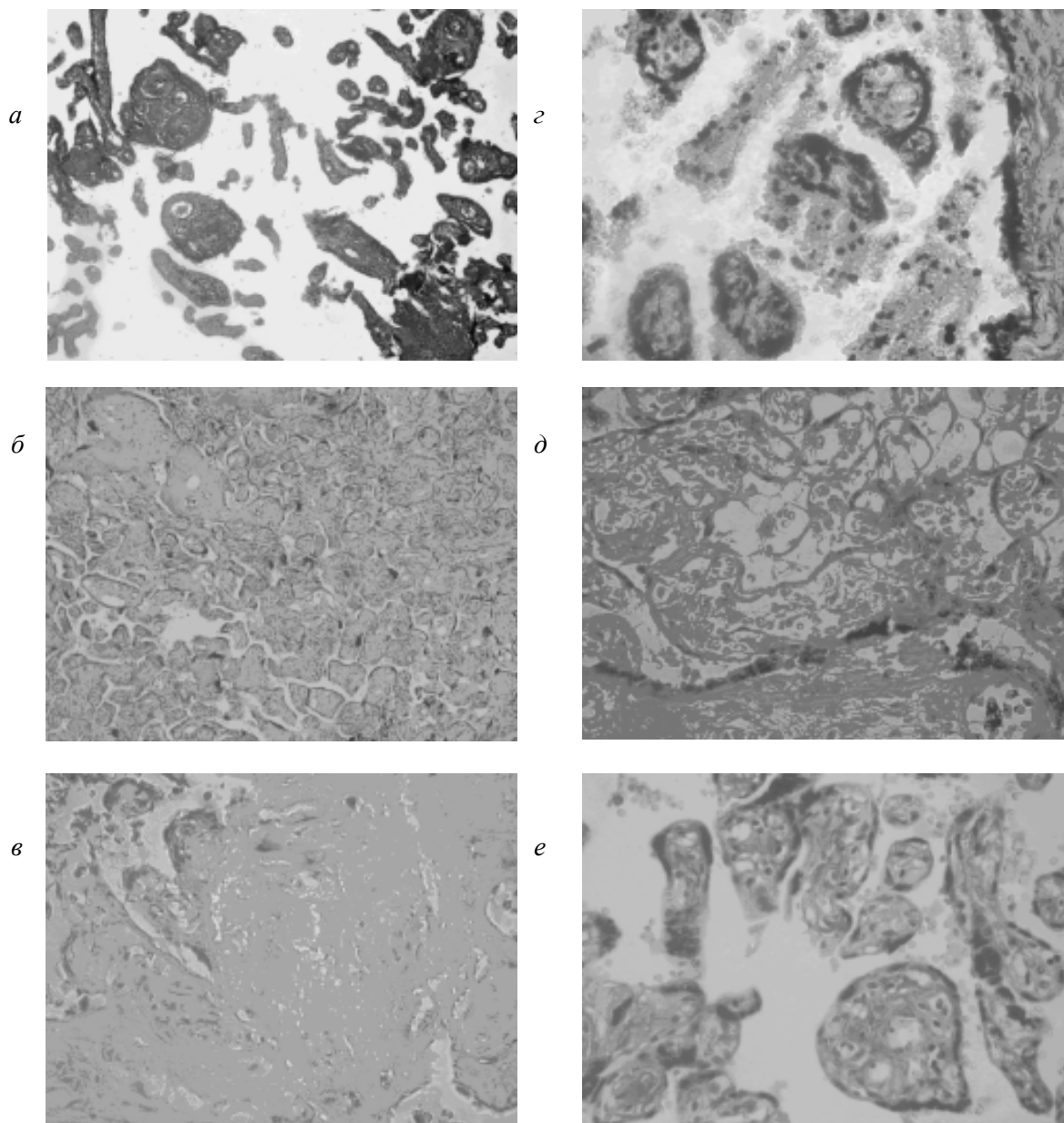


Рис. 1. Плаценти жінок з ВІЛ і ГВІ:

a – нерівномірно розташовані, дрібні, гіповаскуляризовані ворсини зі склерозованою стромою. Забарвлення пікрофуксином за ван Гізон. Мікрофотографія. Ок. 10. Об. 10; *б* – ворсина повністю замурована у фібриноїд, повна облітерація судин, епітелій відсутній. Забарвлення гематоксилін-еозином. Мікрофотографія. Ок. 10. Об. 40; *в* – ділянка зближених ворсинок (афункціональна зона). Забарвлення гематоксилін-еозином. Мікрофотографія. Ок. 10. Об. 10; *г* – ділянка крововиливу в міжворсинчастий простір з вогнищем інтервілуситу. Забарвлення пікрофуксином по ван-Гізон. Мікрофотографія. Ок. 10. Об. 10; *д* – виразне повнокров'я судин і набряк строми. Клітини строми з світлими, крупними ядрами. Забарвлення гематоксилін-еозином. Мікрофотографія. Ок. 10. Об. 40; *е* – виразне повнокров'я судин. Синцитіальні вузлики із світлих клітин. Забарвлення гематоксилін-еозином. Мікрофотографія. Ок. 10. Об. 40.

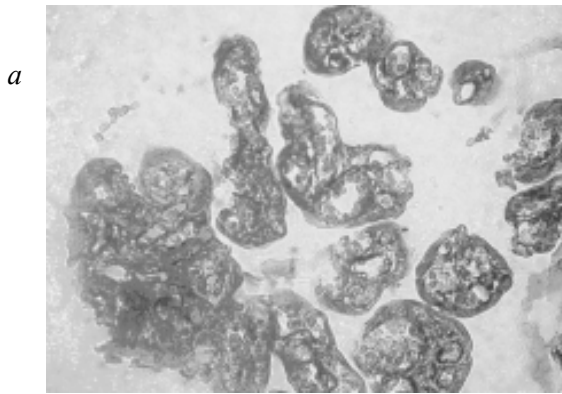
У більшості плацент цієї групи на тлі виявлених вогнищевих змін у ворсинчастому хоріоні, пуповині і оболонках відмічено середній рівень компенсаторних процесів як на тканинному, так і клітинному рівнях у вигляді проліферації термінальних ворсинок, збіль-

шення кількості «синцитіальних вузликів» та ангіоматозу судин.

В більшості спостережень синцитіальні вузлики вміщують збільшену кількість клітин з відносно великими, світлими ядрами, в частині плацент вони дистрофічно змінені (рис. 1, *е*).

При поєднанні цитомегаловірусного та герпесного інфікування у ВІЛ-інфікованих вагітних відмічено порушення плацентарної циркуляції на тлі запальних змін у вигляді амніоніту оболонки і хоріонічної пластинки плаценти, васкуліту опорних ворсин і судин пуповини, в частині плацент при макроскопічному дослідженні плідних оболонки були виявлені дрібні, вогнищеві ущільнення (amnion nodosum), поява яких є прогностично несприятливою ознакою. Порушення диференціювання тканини плаценти при асоціації вірусів були більш вираженими.

Дані імуногістохімічного дослідження фактора адгезії СД31 показали, що в усіх відібраних для дослідження плацентах відмічається виражена реакція з рівнем експресії в середньому 2–3 бали в ендотелії судин (рис. 2, а), в контрольній групі реакція відсутня.



вати його як маркер виникнення ендотеліальної дисфункції. У жінок основної групи відмічено позитивну експресію цього маркера в ендотелії судин ворсин усіх калібрів.

Висновки

У більшості плацент від жінок з ВІЛ та ГВІ відмічаються прояви субкомпенсованої плацентарної дисфункції з вираженими в різній мірі неспецифічними інволютивно-дистрофічними змінами і гострими циркуляторними розладами.

Негативний вплив на плаценту ВІЛ та ГВІ проявляється змінами у синцитіотрофобласті, клітинах строми і децидуальних клітинах та васкулопатії з утворенням тромбів, що вказує на ушкодження ендотелію судин, яке підтверджено встановленою імуногістохімічно позитивною експресією СД31 і фактора Віллебранта.

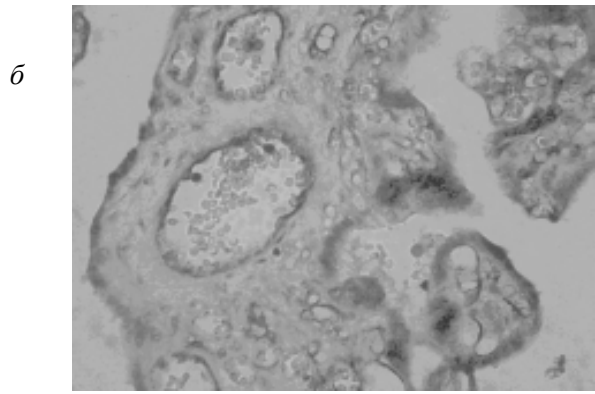


Рис. 2. Імуногістохімічні дослідження плацент жінок з ВІЛ: помірна і виражена експресія СД31 (а) та помірна експресія фактора Віллебранта (б) в ендотелії судин ворсин. Мікрофотографія. Ок. 10. Об. 20

При фізіологічних умовах ендотелій судин продукує велику кількість біологічно активних факторів, які пов'язані з порушенням судинного тону та проникності судин. Однією з таких речовин, яка синтезується і накопичується в ендотелії, є фактор Віллебранта. У випадку ушкодження ендотелію звільнення фактора Віллебранта збільшується (рис. 2, б), що дає можливість використовувати

Перспективність дослідження. Отримані результати розкривають патогенез розвитку плацентарної недостатності у жінок з ВІЛ-асоційованою герпесвірусною інфекцією і є підставою для розробки патогенетично спрямованого лікувально-профілактичного комплексу для попередження акушерських і перинатальних ускладнень у таких жінок.

Список літератури

1. Инфекционные плацентиты : метод. пособие / В.Ф. Мельникова, А.В. Цинзерлинг, Н.Г. Глуховец и др. – СПб., 1991. – 112 с.
2. Женщина, ребенок и ВИЧ / под ред. Н.А. Белякова, Н.Ю. Рахманиной, А.Г. Рахмановой. – Санкт-Петербург – Вашингтон, 2012. – 600 с.
3. Кулаков В.И. Плацентарная недостаточность и инфекция / В.И. Кулаков, Н.В. Орджоникидзе, В. Л. Тютюнник. – М., 2004. – 494 с.
4. Спектр и частота оппортунистических заболеваний у больных ВИЧ-инфекцией / Е. Голохвостова, С. Царенко, Н. Литвинова и др. // Врач. – 2012. – № 6. – С. 26–30.

5. King C.C. The role of co-infections in mother-to-child transmission of HIV / C.C. King, R.E. Sascha, A.P. Kourtis // *Current HIV Research*. – 2013. – № 11. – P. 10–23.
6. Кольцова І.Г. Фетоплацентарна недостатність та інфекції групи TORCH / І.Г. Кольцова, А.П. Боровик, П.З. Протченко // *Педіатрія, акушерство та гінекологія*. – 2006. – № 1. – С. 84–88.
7. Александрова Н.В. Ранние этапы становления системы мать–плацента–плод / Н.В. Александрова, О.Р. Баев // *Акушерство и гинекология*. – 2011. – № 8. – С. 4–10.
8. Климов В.А. Эндотелий фетоплацентарного комплекса при физиологическом и патологическом течении беременности / В.А. Климов // *Акушерство и гинекология*. – 2008. – № 2. – С. 7–10.
9. Privratsky J.R. PECAM-1: regulator of endothelial junctional integrity / J.R. Privratsky, P.J. Newman // *Cell Tissue Res*. – 2014. – Vol. 355 (3). – P. 607–619.
10. Woodfin A. PECAM-1: a multi-functional molecule in inflammation and vascular biology / A. Woodfin, M.B. Voisin, S. Nourshargh // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. – 2007. – Vol. 27 (12). – P. 2514–2523.
11. Privratsky J.R. PECAM-1: conflicts of interest in inflammation / J.R. Privratsky, D.K. Newman, P.J. Newman // *Life Sci*. – 2010. – Vol. 87 (3–4). – P. 69–82.
12. Фактор Виллебранда и его роль в дисфункции эндотелия при ишемической болезни сердца / Я.И. Вериги, И.В. Демко, М.М. Петрова и др. // *Сибирское медицинское обозрение*. – 2014. – № 5 (89). – С. 23–28.
13. Тюленева О.А. Методологічний аспект застосування імуногістохімічної методики на фактор von Willebrand на матеріалі матково-плацентарної ділянки та міометрія вагітних / О.А. Тюленева, І.С. Давиденко, В.М. Завалецький // *Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина*. – 2015. – Т. V, № 4 (18). – С. 95–100.
14. Goksu Erol A.Y. Significance of platelet endothelial cell adhesion molecule-1 (PECAM-1) and intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expressions in preeclamptic placentae / A.Y. Goksu Erol, M. Nazli, Y.S. Elis // *Endocrine*. – 2012. – Vol. 42 (1). – P. 125–131.
15. Immunohistochemical expression of von Willebrand factor in the preeclamptic placenta / M. Parra-Cordero, C. Bosco, J. Gonzalez et al. // *J. Mol Histol*. – 2011. – Vol. 42 (5). – P. 459–465.

Т.Н. Аношина

МАРКЕРЫ СОСУДИСТЫХ НАРУШЕНИЙ В ПЛАЦЕНТЕ ПРИ ВИЧ-АССОЦИИРОВАННОЙ ГЕРПЕСВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

Как ВИЧ, так герпесвирусная инфекция (ГВИ) сопровождаются высокой частотой плацентарной дисфункции. Исследовано 10 плацент от женщин с ВИЧ и ГВИ и 10 – от женщин с физиологическим течением беременности. В большинстве плацент от женщин с ВИЧ и ГВИ отмечаются проявления субкомпенсированной плацентарной дисфункции с выраженными в разной степени неспецифическими инволютивно-дистрофическими изменениями и острыми циркуляторными расстройствами. Выявлены изменения в синцитиотрофобласте, клетках стромы и децидуальных клетках, васкулопатии с образованием тромбов, указывающие на повреждение эндотелия сосудов, что подтверждено установленной иммуногистохимически положительной экспрессией CD31 и фактора Виллебранта.

Ключевые слова: ВИЧ, герпесвирусная инфекция, плацента, CD31, фактор Виллебранта.

T.N. Anoshina

MARKERS OF VASCULAR DISORDERS IN THE PLACENTA IN HIV-ASSOCIATED HERPESVIRUS INFECTIONS

Like HIV, herpes virus infection (HVI) are accompanied by a high rate of placental dysfunction. 10 studied the placentas of women living with HIV and HVI and 10 – from women with physiological pregnancy. Most placentas from women with HIV and HVI of manifestations subcompensated placental dysfunction expressed in varying degrees of involution-nonspecific degenerative changes and acute circulatory disorders. The changes in the syncytiotrophoblast, decidual cells and stromal cells to form blood clots vasculopathy indicating damage to vascular endothelium, as confirmed by fixed immunohistochemical positive expression of SD31 and Willebrand factor.

Key words: HIV, herpes virus infection, placenta, CD31, Willebrand factor.

Поступила 29.08.16