

С.П. Польова, І.С. Давиденко

## Морфологічні ознаки незрілості хоріальних ворсин плаценти та проліферативна активність їх цитотрофобласта при туберкульозі у вагітних

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

**Ключові слова:** туберкульоз у вагітних • незрілість хоріальних ворсин • проліферація цитотрофобласта

Гістологічними та імуногістохімічними (визначення проліферативного антигена PCNA) методами досліджено 78 плацент при туберкульозі у вагітних, в т.ч. 16 плацент з туберкульозним запаленням та 62 - без нього. Встановлено, що при туберкульозі у вагітних спостерігається незрілість хоріальних ворсин. Сформульовано висновок про те, що для розвитку незрілості ворсин наявність туберкульозного запалення не є обов'язковим. Основними критеріями незрілості ворсин є: більший у порівнянні з фізіологічною вагітністю відсоток проміжних незрілих ворсин, персистенція клітин Гофбауера у проміжних зрілих та термінальних ворсинах, недостатність витончення в цілому плацентарного бар'єра, зокрема: синцитіотрофобласта та прошарку сполучної тканини між епітелієм і судинами ворсин. Виявлено, що незрілість хоріального дерева при туберкульозі у вагітних супроводжується посиленою проліферацією цитотрофобласта проміжних зрілих та термінальних ворсин. Приводиться припущення, що посилена проліферація цитотрофобласта ворсин є одним із чинників незрілості хоріального дерева при туберкульозі у вагітних.

**Морфологические признаки незрелости хоральных ворсин плаценты и пролиферативная активность их цитотрофобласта при туберкулезе у беременных**

С.П. Полева, И.С. Давыденко

Гистологическими и иммуногистохимическими (определение пролиферативного антигена PCNA) методами исследованы 78 плацент при туберкулезе у беременных, в т.ч. 16 плацент с туберкулезным воспалением и 62 - без него. Установлено, что при туберкулезе у беременных отмечается незрелость хоральных ворсин. Сформулирован вывод о том, что для развития незрелости ворсин наличие туберкулезного воспаления не является обязательным. Основными критериями незрелости ворсин являются: больший в сравнении с физиологической беременностью процент промежуточных незрелых ворсин, персистенция клеток Гофбауера в промежуточных зрелых и терминальных ворсинах, недостаточность истончения в целом плацентарного барьера, в частности - синцитиотрофобласта и прослойки соединительной ткани между эпителием и сосудами ворсин. Выявлено, что незрелость хорального дерева при туберкулезе у беременных сопровождается усиленной пролиферацией цитотрофобласта промежуточных зрелых и терминальных ворсин. Приводится предположение, что усиленная пролиферация цитотрофобласта ворсин является одним из факторов незрелости хорального дерева при туберкулезе у беременных.

**Ключевые слова:** туберкулез у беременных • незрелость хоральных ворсин • пролиферация цитотрофобласта*Patologia. - 2006. - T.3, №3 - С.66-69***Morphologic signs of immaturity of chorial villi of placenta and proliferation of its cytotrophoblast under tuberculosis in gravidas**

S.P. Polyova, I.S. Davydenko

78 placentas of gravidas with tuberculosis (including 16 placentas with tuberculous inflammation and 62 without it) were studied by histological and immunohistochemical (the determination of Proliferating Cell Nuclear Antigen) methods. It was determined, that in gravidas with tuberculosis the immaturity of chorial villi exists. The conclusion was made that presence of tuberculous inflammation is not obligatory for the development of villi immaturity. Main signs of villi immaturity are: bigger percent of intermediate immature villi in comparison with physiological pregnancy, the persistence of Hoffbauer cells in intermediate mature and terminal villi, the insufficiency of placental barrier thinning as a whole, in particular - concerning of syncytiotrophoblast and interlayer of connective tissue between epithelium and vessels of villi. It was revealed, that immaturity of chorial tree in tuberculosis gravidas is accompanied by intensive proliferation of cytotrophoblast of intermediate mature and terminal villi. It was supposed, that increased proliferation of cytotrophoblast of villi is one of the factors of immaturity of chorial tree in tuberculosis gravidas.

**Key words:** tuberculosis of gravidas • immaturity of chorial villi • proliferation of cytotrophoblast*Pathologia. 2006;3(3):66-69*

### Вступ

Специфічні та неспецифічні прояви туберкульозного запалення у плаценті були і залишаються предметом неодноразових досліджень [3-5], тоді коли знання у структурах посліду поза межами ділянок із запаленим процесом, а також описи спостережень у плаценті без запальних змін при туберкульозі у вагітній висвітлені в науковій літературі недостатньо. Згідно із нашими даними, при туберкульозі матері у хоріальних ворсинах (ХВ) часто мають місце прояви порушень дозрівання, основні ознаки яких описані у даній статті. Відповідно до робочої гіпотези, яка виникла в ході аналітичного зіставлення низки особливостей порушень дозрівання ХВ при туберкульозі у

оці у вагітній висвітлені в науковій літературі недостатньо. Згідно із нашими даними, при туберкульозі матері у хоріальних ворсинах (ХВ) часто мають місце прояви порушень дозрівання, основні ознаки яких описані у даній статті. Відповідно до робочої гіпотези, яка виникла в ході аналітичного зіставлення низки особливостей порушень дозрівання ХВ при туберкульозі у

вагітної, одним із можливих механізмів виникнення вказаної патології може бути порушення регуляції процесів проліферації цитотрофобласта (ЦТ) ХВ. Потрібно зазначити, що процеси проліферації у ХВ привертають значну увагу дослідників при різноманітній патології цього органа [1,2,5-8]. Згідно із сучасними поглядами, ЦТ є проліферативним джерелом як синцитіотрофобласта [1,5,8], так і клітин Гофбауера [1]. У свою чергу, синцитіотрофобласт та клітини Гофбауера через різноманітні продукти, які вони виробляють і виділяють у навколишні тканини, регулюють процеси проліферації фібробластів та клітин кровоносних судин (ендотеліоцитів, перицитів) ХВ, впливають на їх функціональну активність, на просторову орієнтацію волокнистого компонента та судин строми ворсин [1,5,7]. Проліферуючий ЦТ надійно можна визначити імуногістохімічно за експресією одного із "проліферативних" антигенів, зокрема такого, як проліферативний клітинний нуклеарний антиген (PCNA – від англ. "Proliferating Cell Nuclear Antigen").

**Мета дослідження** – встановити морфологічні особливості проліферації цитотрофобласта хоріальних ворсин імуногістохімічним методом (визначення в клітинних ядрах антигена PCNA) в зв'язку із порушенням їх дозрівання при туберкульозі у вагітних.

#### Матеріал і методи

Досліджено 20 плацент від практично здорових жінок з фізіологічним перебігом вагітності (група контролю) та 78 плацент від жінок, хворих на туберкульоз. Діапазон терміну вагітності 37-40 тижнів. Шматочки плаценти (по 8-10 зразків з кожного спостереження) фіксували у 10%-му розчині нейтрального забуференого формаліну 20-22 години, зневоднювали у спиртах висхідної концентрації, заливали у парафін при 580С з наступним отриманням серійних гістологічних зрізів 5 мкм завтовшки. Останні після депарафінації з оглядовою метою фарбували гематоксиліном і еозином, для ідентифікації кислотостійких бактерій застосовували методику Ціль-Нільсена з наступною бактеріоскопією препаратів, а один із зрізів використовували для імуногістохімічного визначення PCNA. Цей антиген виявляли за допомогою первинних моноклональних антитіл до нього та стрептавідин-біотинової системи візуалізації LSAB2 (пероксидазна мітка + діамінобензидин) виробника DakoCytomation (Данія-США).

Кількісні дослідження виконували на цифрових копіях зображень ХВ за допомогою ліцензійної копії комп'ютерної програми "ВидеоТест Размер 5.0" (ООО Видеотест, Россия, 2000) згідно методики, яка описана нами раніше [2]. Для статистичних вибірок перевіряли гіпотезу про нормальність розподілу за критерієм Уїлкі-Хана-Шапиро. Оскільки вказана гіпотеза в жодній вибірці не була відхилена, використовували

параметричний метод порівняння (непарний двосторонній критерій Стьюдента). Статистичні обчислення проводили у комп'ютерній програмі Primer of Biostatistics, Version 4.03 (by S.A.Glanz, 1998). Критичним рівнем вірогідності вважали  $p=0,05$ .

#### Результати та їх обговорення

Для диференційованої характеристики ХВ використовували класифікацію К.Вепіршкє, Р.Кауфманн [5]. Оскільки у вивчених препаратах абсолютно домінували термінальні, проміжні зрілі та проміжні незрілі ХВ, у цій статті дається характеристика виключно названих ворсин.

У результаті проведеного дослідження встановлено, що серед 78 вивчених плацент від жінок з туберкульозом характерні для туберкульозного запалення зміни мали місце у 16 спостереженнях. Переважна локалізація специфічних уражень – базальна пластинка, хоча у двох спостереженнях ознаки туберкульозного запалення виявляли в окремих ХВ, які розташовані поблизу базальної пластинки. Ураження характеризувалися наявністю різних розмірів ділянок казеозного некрозу, оточені епітеліоїдними клітинами, лімфоцитами та поодинокими велетенськими багатоядерними клітинами Лангганса. Деякі ділянки казеозного некрозу відмежовані від навколишніх тканин тільки лімфоцитами. Туберкульозна етіологія запалення підтверджувалася наявністю в гістологічних препаратах плацент кислотостійких бактерій при фарбуванні зрізів за методом Ціль-Нільсена. У таких плацентах у всіх випадках без винятку спостерігалися ознаки затримки дозрівання хоріального дерева (незрілість), що проявлялося: підвищеним відсотком проміжних незрілих хоріальних ворсин до  $9,8\pm 0,21\%$  проти  $3,1\pm 0,14\%$  у контрольній групі ( $p<0,001$ ); нехарактерною для норми персистенцією клітин Гофбауера та ЦТ в проміжних зрілих та термінальних ворсинах; збільшеною товщиною синцитіотрофобласта до  $5,7\pm 0,25$  проти  $4,1\pm 0,16$  мкм у контролі ( $p=0,002$ ). Окрім того, в плацентах з туберкульозним запаленням відмічено в цілому більшу товщину плацентарного бар'єра (середня дистанція між поверхнею синцитіотрофобласта та поверхнею ендотеліоцитів капілярів ХВ, яка найближча до синцитіотрофобласта) –  $10,8\pm 0,40$  проти  $8,7\pm 0,65$  мкм у контролі ( $p=0,011$ ). Потовщення плацентарного бар'єра зумовлено не тільки синцитіотрофобластом, але і більш значною відстанню між капілярами та синцитіотрофобластом ХВ. Це можна розцінити як додаткову ознаку затримки дозрівання ХВ, оскільки в кінці вагітності за фізіологічних умов повинно відбуватися скорочення відстані між капілярами хоріальних ворсин та їх епітелієм [1,5], що є одним із механізмів необхідного посилення обміну речовин між кров'ю матері та плода через пла-

центарний бар'єр за умов фізіологічного наростання різниці між масою плоду та плаценти.

У 62 спостереженнях вагітностей з туберкульозом матері у послідах не спостерігали ознак специфічного туберкульозного запалення. Однак, з них у 38 (61,3%) плацентах спостерігали гальмування розвитку хоріального дерева з описаними вище ознаками. Причому середньогрупові цифри також вказували на наявність в цілому затримки дозрівання ХВ у цій групі пацієнток. Зокрема, відсоток проміжних незрілих хоріальних ворсин становив  $5,4 \pm 0,12\%$  (розбіжності з групою контролю –  $p < 0,001$ ), товщина синцитіотрофобласта –  $4,9 \pm 0,15$  мкм (відмінність від групи контролю –  $p = 0,005$ ), товщина плацентарного бар'єра –  $10,2 \pm 0,14$  (різниця з контролем за рівнем вірогідності –  $p = 0,028$ ).

Імуногістохімічні дослідження ядерного білка PCNA, істотна експресія якого вказує на знаходження клітини у стані посиленої реплікації ДНК, показали суттєву відмінність проліферативних реакцій ЦТ при туберкульозі вагітних у порівнянні з фізіологічною вагітністю.

У групі контролю середня кількість PCNA-позитивних ядер ЦТ на один поперечний зріз проміжної незрілої ХВ у середньому становила  $8,4 \pm 1,0$ , проміжної зрілої ХВ –  $4,6 \pm 0,29$ , термінальної –  $1,2 \pm 0,07$ . Типові для фізіологічної вагітності проміжні зрілі та термінальні ХВ при імуногістохімічному визначенні PCNA представлені на рисунку 1а.

При туберкульозі вагітних у плацентах з типовим туберкульозним запаленням середня кількість PCNA-позитивних ядер ЦТ на один поперечний зріз проміжної незрілої ХВ визначена з середнім показником  $8,6 \pm 1,8$  (вірогідність розбіжності з контролем несуттєва –  $p > 0,05$ ), проміжної зрілої ХВ –  $5,4 \pm 0,22$  ( $p = 0,035$ ), термінальної –  $2,3 \pm 0,21$  ( $p = 0,003$ ). Рисунок 1б ілюструє описані зміни.

Аналогічна закономірність щодо проліферативної активності ЦТ ХВ була присутня у спостереженнях туберкульозу вагітних без туберкульозного запалення посліду. Зокрема, середня кількість PCNA-позитивних ядер ЦТ на один поперечний зріз проміжної незрілої ХВ у середньому склала  $8,6 \pm 1,4$  (вірогідність розбіжності з середніми цифрами контрольної групи несуттєва –  $p > 0,05$ ), проміжної зрілої ХВ –  $5,8 \pm 0,15$  (у порівнянні з контролем –  $p = 0,007$ , у порівнянні з туберкульозним запаленням –  $p > 0,05$ ), термінальної –  $2,2 \pm 0,14$  (відмінність від середніх цифр контрольної групи –  $p = 0,001$ , а від середніх цифр групи з туберкульозним запаленням плаценти несуттєва –  $p > 0,05$ ).

Таким чином, отримані дані вказують на посилення проліферативної активності ЦТ проміжних зрілих та термінальних ХВ при туберкульозі вагітних, причому незалежно від наявності в плаценті специфічне запалення. Враховуючи, що ЦТ є проліферативним джерелом одночасно для синцитіотрофобласта та клітин Гофбауера [1], на нашу думку, зростання проліферації ЦТ може у певній мірі пояснити порушення дозрівання ХВ. Зокрема, згідно із робочою гіпотезою, персистенція клітин Гофбауера пов'язана із їх новим утворенням з клітин ЦТ, а значна товщина синцитіотрофобласта викликана впливаннями в нього нових порцій ЦТ [1,5,8].

На підставі отриманих даних доречно припустити, що описане явище може свідчити про те, що на проліферацію ЦТ ХВ при туберкульозі вагітних впливають не місцеві запальні процеси, а чинники, які мають загальну дію на організм вагітної.

Отримані результати, однак, поставили питання, яке слід у перспективі вирішити. Йдеться про те, що посилена проліферація в плаценті повинна була би призвести до збільшення її об'єму, однак у наших дослідженнях встановлено, що об'єм плаценти у жінок,

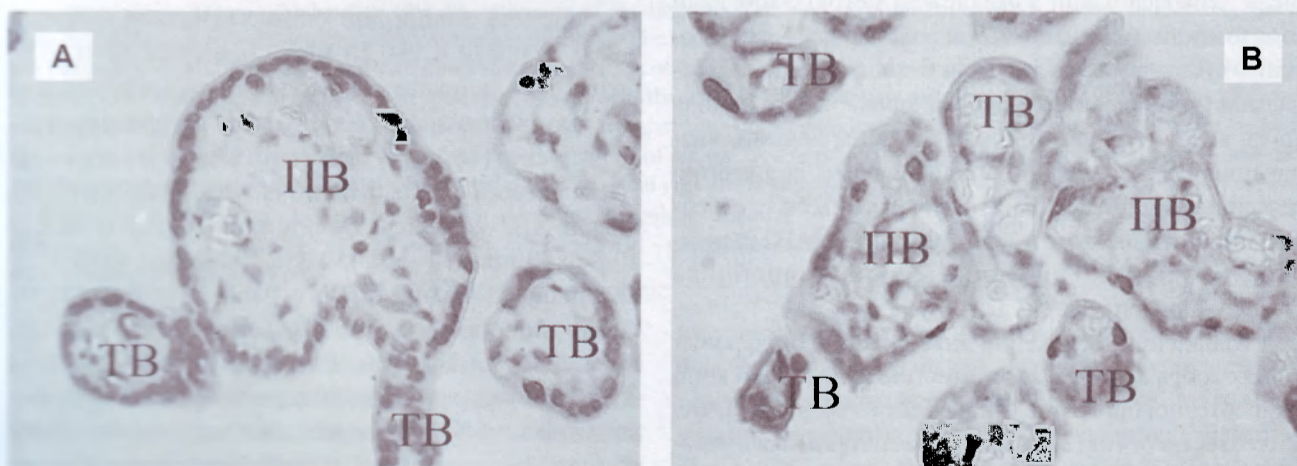


Рис. 1. Проліферативна активність цитотрофобласта у проміжних зрілих ворсинах (ПВ) та термінальних ворсинах (ТВ) плаценти. Моноклональні антитіла проти проліферативного клітинного нуклеарного антигена (PCNA), за допомогою імунопероксидазний метод. Дофарбування гемалауном Майєра.  $36 \times 400$ . А – фізіологічна вагітність. В – туберкульоз у вагітної.

хворих на туберкульоз, в середньому суттєво ( $p < 0,001$ ) менший ( $404 \pm 5,4 \text{ см}^3$ ), ніж при фізіологічній вагітності ( $489 \pm 5,1 \text{ см}^3$ ). Можна припустити, що в плацентах при туберкульозі вагітних порушуються процеси регуляції чисельності клітин, коли разом із зростанням проліферації активізуються процеси відмирання клітин ХВ, причому із зміщенням балансу між вказаними процесами у бік втрати клітинної маси. Це є предметом подальших досліджень.

#### Висновки

1. При туберкульозі у вагітних незалежно від того, розвивається чи не розвивається в плаценті специфічне запалення, спостерігається незрілість хоріальних ворсин. Основними критеріями цього є більший у порівнянні з фізіологічною вагітністю відсоток проміжних незрілих ворсин, персистенція клітин Гофбауера у проміжних зрілих та термінальних ворсинах, недостатність необхідного для завершення вагітності (в нормі) витончення в цілому плацентарного бар'єра, а саме: синцитіотрофобласта та прошарку сполучної тканини між епітелієм і судинами ворсин.

2. Затримка дозрівання хоріального дерева при туберкульозі вагітних супроводжується посиленою проліферацією цитотрофобласта проміжних зрілих та термінальних ворсин.

Перспектива наукового пошуку полягає у з'ясуванні особливостей процесів відмирання (апоптозу) епітеліальних та стромальних клітин хоріальних ворсин при туберкульозі вагітних.

#### Відомості про авторів:

**Польова Світлана Петрівна** – к.мед.н., доцент, завідувач кафедри акушерства і гінекології з курсом дитячої та підліткової гінекології Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці;

**Давиденко Ігор Святославович** – д.мед.н., доцент, завідувач кафедри патологічної анатомії та судової медицини Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці.

#### Адреса для листування:

Польова Світлана Петрівна, Буковинський державний медичний університет, Театральна пл., 2, м. Чернівці. 58000. УКРАЇНА. Тел.: (0372) 55-37-54

#### Література

1. Глуховец Б.И., Глуховец Н.Г. Патология послета. - СПб: ГРААЛЬ, 2002. - 448с.
2. Давиденко І.С. Проліферативна активність цитотрофобласта в хоріальних ворсинах при залізодефіцитній анемії вагітних у термін гестації 5-27 тижнів // Запорізький медичний журнал. - 2006. - №1. - С.37-40.
3. Польова С.П. Перебіг і наслідки вагітності у жінок, хворих на туберкульоз // Вісник наукових досліджень. - 2005. - №4. - С.106-107.
4. Цинзерлинг В.А., Мельникова В.Ф. Перинатальные инфекции. (Вопросы патогенеза, морфологической диагностики и клинико-морфологических сопоставлений). Практическое руководство. - СПб: Элби СПб. 2002. - 352с.
5. Benirschke K., Kaufmann P. Pathology of the human placenta. - 4th ed. - 2000. - New York: Springer. - 974p.
6. Mayhew T.M., Leach L., McGee R. Proliferation, differentiation and apoptosis in villous trophoblast at 13-41 weeks of gestation (including observations on annulate lamellae and nuclear pore complexes) // Placenta. - 1999. - Vol.20. - P.407-422.
7. Myatt L., Cui X. Oxidative stress in the placenta // Histochem. Cell Biol. - 2004. - Vol.122. - P.369-382.
8. Siman C.M., Sibley C.P., Jones C.J. The functional regeneration of syncytiotrophoblast in cultured explants of term placenta // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. - 2001. - Vol.280. - P.1116-1122.

Надійшла 07.10.2006 р.