



7universum.com
UNIVERSUM:

МЕДИЦИНА И ФАРМАКОЛОГИЯ

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МОРФОЛОГИЧЕСКИХ
ИЗМЕНЕНИЙ ЭНДОТЕЛИЯ ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИИ И АОРТЫ
У ПЛОДОВ И НОВОРОЖДЕННЫХ ОТ МАТЕРЕЙ
С ПРЕЭКЛАМПСИЕЙ**

Марковский Владимир Дмитриевич

*д-р мед. наук, профессор,
зав. кафедрой патологической анатомии,
Харьковский национальный медицинский университет,
Украина, г. Харьков*

Сорокина Ирина Викторовна

*д-р мед. наук,
профессор кафедры патологической анатомии,
Харьковский национальный медицинский университет,
Украина, г. Харьков*

Калужина Оксана Владимировна

*аспирант кафедры патологической анатомии,
Харьковский национальный медицинский университет,
Украина, г. Харьков
E-mail: kaluzhina24@ukr.net*

Плitenь Оксана Николаевна

*канд. мед. наук,
доцент кафедры патологической анатомии,
Харьковский национальный медицинский университет,
Украина, г. Харьков
E-mail: pliten@ukr.net*

COMPARATIVE CHARACTERISTIC OF PULMONARY ARTERY AND AORTA ENDOTHELIUM MORPHOLOGICAL CHANGES IN FETUSES AND NEWBORNS FROM MOTHERS WITH PREECLAMPSIA

Markovsky Vladimir

*Doctor of medical Sciences, Professor,
the Head of the Pathological anatomy department,
Kharkiv National Medical University,
Ukraine, Kharkiv*

Sorokina Irina

*Doctor of medical Sciences,
Professor of the Pathological anatomy department,
Kharkiv National Medical University,
Ukraine, Kharkiv*

Kaluzhina Oksana

*Postraduate student of the Pathological anatomy department,
Kharkiv National Medical University,
Ukraine, Kharkiv*

Pliten Oksana

*Candidate of medical Sciences,
assistant professor of the Pathological anatomy department,
Kharkiv National Medical University,
Ukraine, Kharkiv*

АННОТАЦИЯ

Проведен сравнительный анализ морфологических изменений эндотелиального покрова легочной артерии и аорты у плодов и новорожденных от матерей с преэклампсией. Обнаружены изменения размеров и формы эндотелиоцитов, нарастание ядерно-цитоплазматического соотношения, усиление десквамации и склеротических изменений в базальных мембранах, снижение адгезивных свойств эндотелия по мере нарастания тяжести преэклампсии с доминированием в легочной артерии. Такие морфологические особенности могут быть расценены как начало формирования эндотелиальной дисфункции у данной группы людей.

ABSTRACT

Comparative analysis of pulmonary artery and aorta endothelium morphological changes in fetuses and newborns from mothers with preeclampsia has been done. The size and shape changes of endothelial cells, nuclear-cytoplasmic ratio growth, increase of desquamation and sclerotic changes in basal membranes, endothelium adhesive properties reduction in proportion with preeclampsia increasing severity with dominance in the pulmonary artery have been found. These morphological features can be regarded as the beginning of endothelial dysfunction formation in this group of people.

Ключевые слова: эндотелий, эндотелиальная дисфункция, преэклампсия, легочная артерия, аорта.

Keywords: endothelium, endothelial dysfunction, preeclampsia, pulmonary artery, aorta.

Не вызывает сомнения, что, несмотря на достижения современной науки, преэклампсия (ПЭ) беременных остается одной из наиболее проблем акушерства и гинекологии, педиатрии, патологической анатомии. Это обусловлено частотой встречаемости данной патологии, осложнениями, высоким риском заболеваемости и смертности для матери и ребенка [5, с. 273; 13, с. 69].

В работах современных и отечественных авторов широко изучаются вопросы патогенеза ПЭ, в частности эндотелиальной дисфункции (ЭД), как одного из ведущих механизмов в развитии данного осложнения беременности [1, с. 24—26; 11, с. 13; 17, с. 70—71; 18, с. 222—223].

По современным представлениям ЭД обозначается как дисбаланс между продукцией вазодилатирующих, ангиопротективных, антипролиферативных факторов с одной стороны и вазоконструктивных, протромботических, пролиферативных факторов с другой [15, с. 11—12]. Ряд

авторов [2, с. 37; 3, с. 5—7; 4, с. 21—22] указывают на существование условий для развития дисфункции эндотелия во время беременности, среди которых генетическая предрасположенность, гемодинамические нарушения, вызванные нарушением инвазии цитотрофобласта и неполноценной гестационной перестройкой спиральных артерий, плацентарная ишемия и оксидативный стресс. Кроме этого, имеются данные о том, что у беременных женщин при ПЭ легкой степени наблюдаются преимущественно функциональные нарушения эндотелиального покрова, а при её средней и тяжелой степени — деэндотелизация сосудов [2, с. 41]. Сочетание степени выраженности ЭД со степенью гемодинамических изменений в системе мать-плацента-плод свидетельствует о тяжести течения данного осложнения беременности и является прогностически неблагоприятным относительно состояния плода [6, с. 140].

Цель исследования — сравнить морфологические изменения эндотелиальной выстилки легочной артерии и аорты у плодов и новорожденных, матери которых страдали ПЭ разных степеней тяжести.

Материалы и методы. Материалом для исследования послужила ткань легочной артерии и аорты плодов и новорожденных сроком гестации 38—40 недель. Весь материал был разделен на следующие группы: 1-я (контрольная), которую составили плоды и новорожденные от матерей с физиологической беременностью согласно данным карт развития (13 случаев), смерть которых была вызвана острым нарушением маточно-плацентарного кровообращения; 2-я — исследуемая — плоды и новорожденные от матерей с ПЭ (ПЭ I — легкая степень (12 случаев), ПЭ II — средняя степень (12 случаев) и ПЭ III — тяжелая степень (5 случаев)), умерших в результате интра- и постнатальной асфиксии, связанных с ней осложнений. Вышеуказанные группы были сформированы отдельно для каждого сосуда. Для проведения морфологического исследования из легочной артерии и аорты в надклапанном участке вырезали по одному кусочку ткани, которые

фиксировались в 10 % растворе нейтрального формалина, подвергали стандартной парафиновой проводке через спирты возрастающей концентрации, раствор Никифорова (96 % спирт и диэтиловый эфир в соотношении 1:1), хлороформ, затем заливали парафином. На микротоме Microm HM-340 делали серийные срезы толщиной $4\text{--}5 \times 10^{-6}$ м из приготовленных блоков.

Морфологическая обработка включала в себя рутинные гистологические, гистохимические, иммуногистохимические (ИГХ) и морфометрические методы. Комплекс морфологических и морфометрических исследований проводили с помощью микроскопа Olympus BX-41 (Япония) с использованием программ Olympus DP-Soft (Version 3:1) и Microsoft Excel и с помощью люминисцентного микроскопа “Axioskop 40” (Carl Zeiss, ФРГ).

Препараты окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по ван Гизону, методом по Маллори. Прямым методом Кунса по методике Brosman на парафиновых срезах толщиной $5\text{--}6 \times 10^{-6}$ м выполняли иммуногистохимическое исследование. Моноклональными антителами (МКА) к коллагенам III, IV типов (Novocastra Laboratories Ltd.) типировали соответствующие коллагены. МКА к CD34 (Novocastra Laboratories Ltd.) определяли адгезивные свойства клеток. По методу Губиной-Вакулик Г.И. и соавторов [7, с. 1—2] при помощи микроскопа “Axioskop 40” и программного обеспечения Biostat.exe определяли оптическую плотность иммунофлюоресценции эндотелия и коллагенов, которую измеряли в условных единицах свечения (усл. ед. св.). Полученные в результате морфометрического исследования данные обрабатывали методом математической статистики с использованием вариационного анализа [10, с. 27—29, 35—40].

Результаты и их обсуждение. Интима легочной артерии и аорты как в контрольных, так и в исследуемых группах, при макроскопическом исследовании была гладкой, блестящей, без существенных различий между сосудами. При микроскопическом исследовании, несмотря на имеющуюся в литературе гистологическую аналогичность между вышеуказанными

сосудами, прослеживались несущественные различия [14, с. 21—27]. Эндотелиальные клетки как в легочной артерии, так и в аорте плотно прилежали друг к другу, были крупными по размеру, имели полигональную или округлую форму разной длины (в среднем $12,67 \pm 0,82 \times 10^{-6}$ м в легочной артерии, в среднем $15,78 \pm 0,44 \times 10^{-6}$ м в аорте) и высоты (в среднем $5,69 \pm 0,21 \times 10^{-6}$ м в легочной артерии, в среднем $5,72 \pm 0,21 \times 10^{-6}$ м в аорте). Овальное, равномерно окрашенное гематоксилином ядро с одним ядрышком располагалось в центре клеток, где имелось незначительное выпячивание их в просвет сосуда. Цитоплазма равномерно была окрашена эозином. Средняя площадь ядра эндотелиоцитов ($13,43 \pm 0,76 \times 10^{-11}$ м² для легочной артерии, $20,0 \pm 1,6 \times 10^{-11}$ м² для аорты) и средняя площадь цитоплазмы ($46,37 \pm 1,41 \times 10^{-11}$ м² — для легочной артерии, $62,56 \pm 6,84$ — для аорты) также несколько различались. Ядерно-цитоплазматическое соотношение (ЯЦС) в среднем для первого типа сосуда равнялось $0,29 \pm 0,01$, для второго — $0,36 \pm 0,02$. Изредка встречались одиночные поля десквамации эндотелия, площадь которых в поле зрения ($\times 200$) составляла 0—2 клетки ($1,31 \pm 0,12$) в легочной артерии и 0—1 клетки ($0,69 \pm 0,09$) в аорте. При исследовании оптической плотности свечения эндотелиальных клеток, которую отражал маркер CD34, в данной группе было установлено, что в легочной артерии она составляла $0,620 \pm 0,03$ усл. ед. св., а в аорте — $0,615 \pm 0,03$ усл. ед. св. Клетки располагались на однородно окрашенных эозином, хорошо выраженных базальных мембранах, которые равномерно накапливали коллаген IV типа в виде иммунофлюоресценции умеренной интенсивности ($0,560 \pm 0,02$ усл. ед. св. — в легочной артерии, $0,556 \pm 0,02$ усл. ед. св. — в аорте).

В исследуемых группах с ПЭ различных степеней тяжести были обнаружены значительные изменения по сравнению с контролем. Макроскопическая картина имела аналогичный вид для обоих типов сосудов. Интима гладкая, беловатая и умеренно блестящая. При микроскопическом исследовании определялись следующие изменения. В обоих типах сосудов

эндотелиальные клетки, располагающиеся на базальной мембране, прилежали друг к другу. По мере нарастания тяжести ПЭ они уплощались, тем самым изменяя свои размеры высоты и длины (таблица 1).

Ядро эндотелиоцитов также располагалось центрально, имело вытянутую овальную форму, одно ядрышко. Эозин равномерно окрашивал цитоплазму. Также изменялись показатели площади ядра и цитоплазмы в эндотелиальной выстилке, соответственно, и величина ЯЦС (таблица 2).

Анализируя вышеизложенные данные, следует отметить, что показатели ЯЦС в легочной артерии в группах легкой и средней ПЭ нарастают по сравнению с контролем и по мере утяжеления преэклампсии. При этом его значение в группе с тяжелой ПЭ несколько ниже двух предшествующих групп, но все так же существенно выше в сравнении с контролем. По нашему мнению, это связано с активацией компенсаторно-адаптационных процессов в группах с ПЭ I и II, срывом их в группе с ПЭ III [9, с. 13—14]. В аорте ЯЦС хоть и снижается от группы ПЭ I к группе ПЭ III, но все равно остается значительно выше контрольных показателей.

Таблица 1.

Размеры эндотелиоцитов легочной артерии и аорте плодов и новорожденных от матерей с преэклампсией ($M \pm m$)

Морфометрические параметры	Степень преэклампсии / тип сосуда	Преэклампсия легкой степени		Преэклампсия средней степени		Преэклампсия тяжелой степени	
		Легочная артерия	Аорта	Легочная артерия	Аорта	Легочная артерия	Аорта
Длина эндотелиоцитов, ($10^{-6}m$)		11,38± 0,45	10,85± 0,44*	13,53± 0,49	12,16± 0,86*	13,61± 0,49	12,23± 0,86*
Высота эндотелиоцитов, ($10^{-6}m$)		3,92± 0,15*	4,78± 0,15*	3,43± 0,09*	3,47± 0,18*	3,15± 0,08*	3,38± 0,18*

* — $p \leq 0,001$ — вероятность разницы двух средних достоверна между контрольной и исследуемой группами.

Таблица 2.

Средняя площадь ядра и цитоплазмы и ядерно-цитоплазматическое соотношение эндотелиоцитов легочной артерии и аорте плодов и новорожденных от матерей с преэклампсией (M±m)

Степень пре-эклампсии / тип сосуда Морфометрические параметры	Преэклампсия легкой степени		Преэклампсия средней степени		Преэклампсия тяжелой степени	
	Легочная артерия	Аорта	Легочная артерия	Аорта	Легочная артерия	Аорта
Площадь ядра, (10 ⁻¹¹ м ²)	10,42± 0,37**###	17,92± 0,88	15,73± 1,05##	6,03± 0,34**	15,26± 1,19#	5,51± 0,34**
Площадь цитоплазмы, (10 ⁻¹¹ м ²)	20,60± 1,71**#	30,46± 2,44**	18,29± 0,57**###	13,61± 0,79**	17,78± 0,64**#	13,61± 0,78**
ЯЦС	0,61± 0,06**	0,67± 0,04**	0,85± 0,04**###	0,46± 0,02**	0,84± 0,05**###	0,44± 0,02*

* — $p \leq 0,01$ — вероятность разницы двух средних достоверна между контрольной и исследуемой группами;

** — $p \leq 0,001$ — вероятность разницы двух средних достоверна между контрольной и исследуемой группами;

— $p \leq 0,01$ — вероятность разницы двух средних достоверна между соответствующими значениями легочной артерии и аорты;

— $p \leq 0,001$ — вероятность разницы двух средних достоверна между соответствующими значениями легочной артерии и аорты.

При анализе полей десквамации в легочной артерии обнаруживалось, что в группе легкой ПЭ их площадь составляет 0—2 клетки (1,31±0,12), что равнозначно контролю, а в группах ПЭ II и ПЭ III — 4—5 клеток (4,34±0,09) и 6—7 клеток (6,34±0,09) соответственно, где эти значения достоверно отличаются от группы контроля ($p < 0,001$). При исследовании десквамативных изменений в аорте было установлено, что в группе легкой ПЭ изменения одинаковы с контролем (0—1 клетки, 0,69±0,09), а в группах со средней и тяжелой ПЭ эти значения возрастали (3—4 клетки, 3,34±0,09 — в средней и 5—6 клеток, 5,69±0,09 — в тяжелой), что является статистически достоверным по сравнению с контрольной группой ($p < 0,001$).

Степень выраженности десквамации эндотелия в легочной артерии достоверно выше таковой в аорте во всех группах с ПЭ ($p < 0,001$).

Маркер CD34 хуже накапливался эндотелиоцитами как в легочной артерии, так и в аорте, об этом свидетельствует снижение его оптической плотности. Для легочной артерии он составил $0,580 \pm 0,01$ усл. ед. св. для легкой ПЭ, $0,508 \pm 0,02$ усл. ед. св. для средней ПЭ и $0,401 \pm 0,01$ усл. ед. св. для тяжелой ПЭ. При этом значения в последних двух группах достоверно отличаются от контрольной группы ($p < 0,01$ и $p < 0,001$ соответственно). Для аорты его значения были следующие: $0,572 \pm 0,01$ усл. ед. св. для легкой ПЭ, $0,501 \pm 0,02$ усл. ед. св. для средней ПЭ и $0,398 \pm 0,03$ усл. ед. св. для тяжелой ПЭ. Значения в последних двух группах также были достоверны в сравнении с контролем ($p < 0,01$ и $p < 0,001$ соответственно). При сопоставлении полученных данных оптической плотности свечения CD34 между легочной артерией и аортой в группах с различной степенью тяжести ПЭ достоверных различий не выявлено. Вышеуказанные изменения, как видно, больше выражены в легочной артерии, что, по нашему мнению, может объясняться особенностями функционирования легочной артерии в интранатальном и раннем постнатальном периоде [16, с. 107—109].

Утолщенные, изредка гофрированные базальные мембраны интенсивно окрашивались эозином в обоих сосудах исследуемых групп. Содержание коллагена IV типа в базальных мембранах легочной артерии и аорты по сравнению с контролем снижалось от группы с ПЭ I к группе с ПЭ III. Этот коллаген является общепризнанной составляющей всех базальных мембран [7, с. 30]. Показатели оптической плотности свечения коллагена IV типа в легочной артерии составили в группе с легкой ПЭ — $0,520 \pm 0,03$ усл. ед. св., средней ПЭ — $0,442 \pm 0,04$ усл. ед. св. и тяжелой ПЭ — $0,321 \pm 0,05$ усл. ед. св., что было достоверно отлично в последних двух группах от контрольных показателей ($p < 0,01$ и $p < 0,001$ соответственно). Одноименный показатель для аорты имел следующие значения в исследуемых группах: ПЭ I — $0,516 \pm 0,03$ усл. ед. св., ПЭ II — $0,438 \pm 0,038$ усл. ед. св., ПЭ III — $0,319 \pm 0,048$ усл. ед. св., что также было достоверно отлично от контроля в двух

последних группах ($p < 0,01$ и $p < 0,001$ соответственно). Между значениями оптической плотности свечения коллагена IV типа в группах с различной тяжестью ПЭ в легочной артерии и аорте достоверных различий не установлено.

В структуре базальных мембран обоих типов сосудов также определялся коллаген III типа, где, как известно, должен присутствовать коллаген IV типа. Появление нехарактерного для нее интерстициального коллагена III типа может свидетельствовать о наличии склеротических изменений [12, с. 90].

Выводы.

1. Преэклампсия матери приводит к формированию существенных морфологических изменений в эндотелии легочной артерии и аорте у плодов и новорожденных, что проявляется изменением размеров и формы эндотелиоцитов, нарастанием ядерно-цитоплазматического соотношения, усилением десквамации и снижением адгезивных свойств, о чем свидетельствует снижение экспрессии эндотелием рецепторов CD 34. Данные изменения больше выражены в легочной артерии.

2. Альтеративно-склеротические изменения в эндотелиальной выстилке сосудов плодов и новорожденных усиливаются при нарастании тяжести преэклампсии матери. В базальных мембранах легочной артерии и аорты с преобладанием в первом типе сосуда отмечается нарастание склеротических изменений от легкой к тяжелой преэклампсии в результате появления интерстициального коллагена III типа на фоне дефицита коллагена IV типа.

3. Вышеперечисленные изменения могут быть рассмотрены как начало формирования морфологического субстрата эндотелиальной дисфункции у плодов и новорожденных от матерей с преэклампсией, в патогенезе которой одну из ключевых ролей играет дисфункция эндотелия.

Список литературы:

1. Антошина Н.Л. Современные представления об этиологии и патогенезе гестоза / Н.Л. Антошина, С.И. Михалевич // Медицинские новости. — 2005. — № 3. — С. 23—28.
2. Грищенко О.В., Сторчак А.В., Тоан Б.С. Роль матрикса соединительной ткани в обеспечении функциональной активности эндотелия у беременных // Репродуктивная эндокринология. — 2011. — № 1. — С. 36—41.
3. Гуреев В.В. Эндотелиальная дисфункция — центральное звено в патогенезе гестоза // Научные ведомости. — 2014. — № 4 (123). — С. 5—17.
4. Демин Г.С. Анализ ассоциации полиморфизма генов сосудистой системы и эндотелиальной дисфункции с развитием преэклампсии : автореф. дис. ... канд. биол. наук. — М., 2008. — 25 с.
5. Иванов И.И. Преэклампсия беременных: особенности патогенеза, тактики ведения // Таврический медико-биологический вестник. — 2012. — Т. 15. — № 2, ч. 2 (58). — С. 273—285.
6. Марущенко Ю.Л. Оцінка стану плода в залежності від метаболічних змін у вагітних з преєклампсією // Таврический медико-биологический вестник. — 2012. — Т. 15, № 2. — С. 138—140.
7. Пальцев М.А., Иванов А.А. Межклеточные взаимодействия. — М.: Медицина, 1995. — 224 с.
8. Патент України № 200906730, 25.12.2009. Спосіб кількісного визначення вмісту антигену в біологічних тканинах // Патент України № 46489. 2009. Бюлетень № 4. / Губіна-Вакулик Г.І., Сорокіна І.В., Марковський В.Д. [та ін.].
9. Потапов С.М. Патоморфологічні особливості сім'яних залоз плодів та новонароджених від матерів з преєклампсією : автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Харків, 2010. — 22 с.
10. Райскина М.Е., Аялене Д.-М.А. Статистическая обработка медицинских данных. — Вильнюс: Мокслас, 1989. — 103 с.

11. Салахеева Г.С. Эндотелиальная дисфункция — один из ведущих патогенетических факторов развития гестоза // Современные проблемы науки и образования. — 2006. — № 5. — С. 12—14.
12. Серов В.В., Шехтер А.Б. Соединительная ткань (функциональная морфология и общая патология). — М.: Медицина, 1984. — 312 с.
13. Слободина А.В. Факторы риска развития преэклампсии // Сибирский медицинский журнал. — 2012. — № 5. — С. 68—71.
14. Хэм А., Кормак Д. Гистология в пяти томах: пер. с англ. — М.: Мир, 1983. — Т. 4. — 245 с.
15. Шевченко Ю.Л. Эндотелий — структурная основа системы кровообращения: история проблемы // Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. — 2011. — Т. 6, № 2. — С. 9—15.
16. Murphy P.J. The fetal circulation // Continuing Education in Anaesthesia, Critical Care & Pain. — 2005. — Volume 5, № 4. — P. 107—112.
17. Poston L. Endothelial dysfunction in pre-eclampsia // Pharmacological reports. — 2006. — № 58. — P. 69—74.
18. Vara A. Endothelial dysfunction in preeclampsia // Gynecologic and Obstetric Investigation. — 2003. — № 56. — P. 221—224.