© О.Н. Аржанова, И.М. Кветной, А.В. Кузнецова, А.В. Колобов

НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта РАМН, Санкт-Петербург

ЭКСПРЕССИЯ БИОГЕННЫХ АМИНОВ ПРИ ПЛАЦЕНТАРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

■ **Проанализировано течение беременности и родов, морфология плаценты и экспрессия мелатонина и серотонина тканью плаценты у женщин с гестозом и плацентарной недостаточностью. Получены данные об участии локально синтезируемых биогенных аминов в патогенезе плацентарной недостаточности.**

■ **Ключевые слова:** плацентарная недостаточность; биогенные амины; мелатонин; серотонин; гестоз

Нарушение функции плаценты — одна из основных причин перинатальной заболеваемости и смертности [3, 4, 12, 14, 15]. В понятие плацентарной недостаточности входят как морфологические изменения в плаценте, которые отражают характер патофизиологических реакций на тканевом, клеточном, субклеточном уровнях, так и компенсаторно-приспособительные реакции организма. Подтверждением служат наши исследования, в которых показано, что в 35,6 %, при отсутствии клинических симптомов, морфологически определяется плацентарная недостаточность [7].

Изучение плаценты как органа, играющего важную роль в регуляции взаимодействия между матерью и плодом, является актуальной проблемой. Функции плаценты регулируются продуцирующими в ней биологически активными нейроиммуноэндокринными медиаторами, которых в настоящее время верифицировано более 100. Все их можно разделить на 4 основные группы:

1) классические пептидные гормоны (хориональный гонадотропин, пролактин, кортикотропный рилизинг-гормон, лептин, соматостатин, эндотелины);

2) белки-мессенджеры (синцитин, эндоглин, цитокин);

3) биогенные амины (серотонин, мелатонин, гистамин, катехоламины);

4) внутри- и межклеточные сигнальные молекулы (цитокины, нейропилины, интегрины, хемокины, хапероны и многие другие) [1].

Изменения в плаценте являются одним из основных пусковых механизмов в развитии нарушений плодово-плацентарного кровообращения и таких осложнений беременности, как гестоз и внутриутробная задержка развития плода [21].

В условиях отсутствия иннервации сосудов плацентарного кровотока особый интерес вызывают местные гуморальные факторы. В последние годы стало ясно, что автономный контроль плацентарного кровотока обеспечивается конкурирующим влиянием вазодилататоров и вазоконстрикторов — сигнальных молекул, вырабатываемых местно, в плаценте и органах плода. Среди местных вазодилататоров наибольшая роль отводится окиси азота (NO) и простациклину. Вазоконстрикторы представлены: тромбоксаном А2, ангиотензином II, эндотелином и серотонином [10, 19].

Важным этапом формирования плацентарного кровообращения при физиологической беременности является инвазия трофобласта в проксимальные участки спиральных артерий матки [20, 23]. К началу второго триместра беременности маточные сегменты спиральных артерий, подвергшихся децидуальным изменениям, утрачивают мышечную структуру и находятся в состоянии максимальной дилатации, при этом они лишаются способности реагировать на вазоактивные стимулы. В зоне инвазии возрастает объем и снижается давление крови, омывающее межворсинчатое пространство, что обеспечивает удовлетворительное состояние плода. Нарушение инвазии трофобласта препятствует развитию децидуальных изменений в спиральных артериях. При этом зна-

чительно снижается приток крови в межворсинчатое пространство и ее отток. Снижение объемной скорости кровотока и венозный застой в межворсинчатом пространстве ухудшают газообмен между кровью матери и плода [8]. Длительная гипоксия оказывает повреждающее действие на целостность эндотелия материнских и плодовых сосудов, вовлеченных в плацентарное кровообращение, где возрастает число рецепторов, связывающих прессорные медиаторы (ангиотензин II, серотонин, норадреналин). Сосуды плаценты и пуповины наиболее чувствительны к действию ангиотензина II, спиральные артерии — к действию серотонина и норадреналина. Повышенная чувствительность к прессорным агентам ведет к активации коагуляционного каскада, еще более усугубляя перфузию межворсинчатого пространства [2, 5, 11, 18]. Физиологическая гиперкоагуляция, достигающая максимального развития к концу беременности, обеспечивает локальный гемостаз после родов. В течение беременности развивается гиперволемия и снижается периферическое сосудистое сопротивление. Эти механизмы носят защитный характер при физиологической беременности. При плацентарной недостаточности уменьшается количество проникающих в миометрий трофобластических элементов. Неполная инвазия трофобласта в спиральные артерии становится причиной недостаточности его перфузии и изменения секреции гуморальных факторов, при этом активация системы гемостаза теряет защитную функцию и способствует усугублению плацентарной недостаточности [13, 16]. Серотонин, который выбрасывается из агрегатов тромбоцитов в материнский кровоток, стимулирует гистаминовые и серотониновые рецепторы. Это приводит к развитию генерализованного спазма сосудов с последующим повреждением эндотелия, что является одним из основных этиологических факторов плацентарной недостаточности и гестоза. Проагрегационное действие серотонина на тромбоциты еще более усложняет этот «порочный круг». Серотониновый спазм артериол вызывает активацию тромбоцитов, что приводит к еще большему выбросу серотонина на периферии. Такая роль серотонина подтверждается повышением концентрации метаболита серотонина 5-гидроксииндолацетата в моче у больных с гестозом. При определении серотонина в крови беременных с плацентарной недостаточностью и нефропатией было выявлено повышение уровня данного амина. Таким образом, механизмы, ответственные за спазм сосудов и последующее повреждение эндотелия, свидетельствуют об определенной роли серотонина в патогенезе гипертензии и плацентарной недостаточности.

Мелатонин является ключевым регулятором биологических ритмов в организме человека и животных, а также участвует в регуляции многих жизненно важных физиологических процессов: созревание и развитие половых органов, пигментный обмен, метаболизм свободных радикалов, иммунный ответ, регуляция настроения и сна, пролиферация и дифференцировка клеток [9]. Начиная с ранних стадий развития эмбриона, в тканях плода и плаценты присутствует множество рецепторов к мелатонину [25]. Мелатонин-связывающий рецептор (Mel-1a) локализован в плаценте крысы на 19 день беременности в губчатом трофобласте и гигантских клетках трофобласта [22]. Имеются предположения о локализации мелатонин-продуцирующих клеток в плаценте, однако убедительных доказательств в пользу этих предположений нами в литературе не найдено. В пользу предположения о возможной секреции мелатонина в тканях плаценты может служить факт обнаружения рецепторов к серотонину в плаценте мыши [24]. Важная роль принадлежит мелатонину в регуляции сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза. Уровень мелатонина влияет на АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов. При недостатке мелатонина в организме происходит активация тромбоцитов и нарушение периферического кровообращения с понижением сосудистого сопротивления и повышением проницаемости сосудистой стенки, что ведет к нарушению микроциркуляции [17].

Таким образом, биогенные амины (серотонин и мелатонин) играют важную роль в поддержании маточно-плацентарного кровообращения на адекватном уровне, обеспечивающем удовлетворительное состояние плода.

Хроническая плацентарная недостаточность является одним из наиболее частых осложнений беременности, при которой развиваются гипоксические состояния у внутриутробного плода, что приводит к высокой перинатальной заболеваемости и смертности [4, 6, 12]. Анализ литературы свидетельствует о малом количестве работ, посвященных изучению участия биогенных аминов в развитии хронической плацентарной недостаточности.

Целью настоящей работы явилось исследование экспрессии биогенных аминов (серотонина и мелатонина) в клеточных структурах плаценты у беременных с хронической плацентарной недостаточностью.

Материал и методы исследования

Проведен ретроспективный анализ течения беременности и родов у 32 женщин в возрасте от 20 до 29 лет с гистологически подтвержденной пла-

центарной недостаточностью. Группу сравнения составили 10 здоровых беременных без признаков плацентарной недостаточности. Диагноз плацентарной недостаточности установлен на основании фетометрии и допплерометрического исследования (ультразвуковое и допплерометрическое исследования проведены в «Лаборатории физиологии и патофизиологии плода» НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта). При анализе истории родов оценивались следующие показатели: средняя масса новорожденных, состояние детей по шкале Апгар, морфологическое строение плаценты. Для проведения иммуногистохимической реакции с антителами к серотонину (1:100, Novocastra) использовали стандартный одноэтапный протокол. Для выявления экспрессии мелатонина проводили одноэтапный протокол с трипсинизацией (демаскировкой антигена) и ультраспецифичными кроличьими антителами к мелатонину (1:100, CIDtech Res. Comp.). В качестве вторых антител использовали универсальный набор, содержащий биотинилированные антимышиные и антикроличьи иммуноглобулины, соответственно. Визуализацию реакций проводили с применением комплекса авидина с биотинилированной пероксидазой с последующим проявлением пероксидазы хрена диаминобензидином (ABC-kit DAKO). Морфометрическое исследование проводили с использованием системы компьютерного анализа микроскопических изображений, состоящей из микроскопа Nikon Eclipse E400, цифровой камеры Nikon DXM1200, персонального компьютера на базе Intel Pentium 4 и программного обеспечения «Видеотест-Морфология 4.0». В каждом случае анализировали, как минимум, 10 полей зрения при увеличении 400. Оптическую плотность экспрессии указанных гормонов измеряли в условных единицах. Также определяли площадь их экспрессии (которая представляла собой отношение площади, занимаемой иммунопозитивными клетками, к общей площади клеток в поле зрения), выражаемое в процентах. Указанные параметры отражают интенсивность синтеза или накопления исследуемых сигнальных молекул.

Результаты и их обсуждение

I группу составили 15 беременных с плацентарной недостаточностью без признаков гестоза. II группу составили 17 беременных с плацентарной недостаточностью, развившейся на фоне нефропатии. Группу сравнения составили 10 беременных без клинических и УЗИ-признаков плацентарной недостаточности и гестоза.

Беременность у женщин I и II групп протекала с большим количеством осложнений, чем у женщин группы контроля. Частота угрожающего прерывания беременности у женщин первых двух групп на всех сроках гестации была значительно выше, чем в группе сравнения. В I группе она составила 46,0 ± 3,8 % , во II — 17,6 ± 2,4 %, в III группе — 5,0 ± 1,8 % ($p < 0,001$). При обследовании у женщин I и II групп выявлена высокая частота урогенитальных инфекций, однако достоверных различий между группами выявлено не было. В 5,1 ± 0,5 % выявлен хламидиоз, в 23,0 ± 2,6 % — микоплазмоз, в 47,2 ± 5,6 % — уреаплазмоз. Маловодие регистрировалось у 25,2 ± 3,1 % беременных первой группы и 23,5 ± 2,6 % — второй, в то время как в группе контроля этот показатель составил 7,0 ± 1,7 % ($p < 0,001$). Многоводие было отмечено в 21,8 ± 3,5 % у беременных первых двух групп, что достоверно выше, чем в группе сравнения (5,0 %). Изменения гемодинамики в системе мать–плацента–плод представлены в таблице 1. Большинство женщин первой группы (13 беременных) были родоразрешены в 39 недель. Средняя масса доношенных новорожденных составила 2794,0 ± 149,0 г. Оценку состояния по шкале Апгар в 8 баллов получили 8 новорожденных, 7 баллов — 5 новорожденных. В 2-х случаях роды были преждевременными (при сроке 32–34 недели). Средняя масса недоношенных новорожденных составила 1728,0 ± 126,0 г. Оценка по шкале Апгар 6 баллов. У одной пациентки с преждевременными родами произведена операция кесарева сечения в связи с нарушением жизнедеятельности плода.

Во II группе у 13 беременных роды были срочными (в 37–38 недель). Средняя масса доношенных новорожденных составила 2503,0 ± 150,0 г. Оценка по шкале Апгар в этой группе у всех но-

Таблица 1

Средние численные значения систолодиастолического отношения (СДО) и индекса резистентности (ИР) в артерии пуповины и маточных артериях

Группа	СДО артерии пуповины	ИР артерии пуповины	СДО правой маточной артерии	ИР правой маточной артерии	СДО левой маточной артерии	ИР левой маточной артерии
I, n = 15	3,79 ± 0,27**	0,64 ± 0,03	2,30 ± 0,21	0,52 ± 0,06	2,10 ± 0,19	0,51 ± 0,05
II, n = 17	3,30 ± 0,31*	0,77 ± 0,02**	2,56 ± 0,18*	0,67 ± 0,06*	2,40 ± 0,12*	0,60 ± 0,04*
Контроль, n = 10	2,28 ± 0,18	0,56 ± 0,03	1,63 ± 0,28	0,45 ± 0,03	1,72 ± 0,22	0,43 ± 0,05
* — $p < 0,01$ по отношению к группе контроля; ** — $p < 0,001$ по отношению к группе контроля						

Таблица 2

Экспрессия серотонина в плаценте

Показатели экспрессии	I группа, n = 15		II группа, n = 17		Контроль, n = 10	
	периферия M ± m, %	центр M ± m, %	периферия M ± m, %	центр M ± m, %	периферия M ± m, %	центр M ± m, %
Средняя площадь экспрессии	1,30 ± 0,04**	1,19 ± 0,02**	0,74 ± 0,01**	0,57 ± 0,01**	2,18 ± 0,02	3,86 ± 0,04
Степень экспрессии	0,44 У.Е.					

* — p < 0,01 по отношению к группе контроля; ** — p < 0,001 по отношению к группе контроля

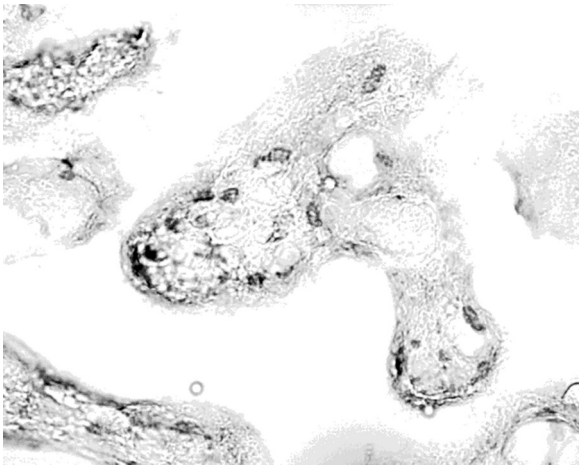

Рис. 1. Экспрессия серотонина в плацентарной ткани в группе контроля, ×400

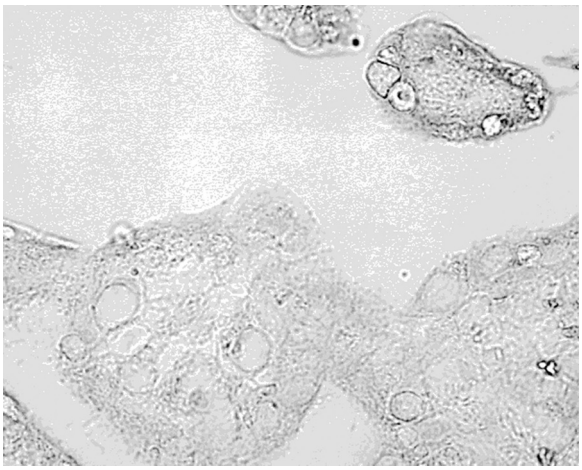

Рис. 2. Экспрессия серотонина в I группе, ×400

ворожденных составила 7 баллов. В 4-х случаях роды были преждевременными (в 32–34 недели). Средняя масса недоношенных детей составила 1620,0 ± 250,0 г. Оценка по шкале Апгар 6 баллов. У 3-х беременных II группы основным показанием для проведения операции послужило нарастание симптомов гестоза. В группе сравнения все роды были срочными. Средняя масса новорожденных составила 3500,0 ± 350,0 г, что достоверно выше по сравнению со II группой (p < 0,01). Оценка по шкале Апгар у всех новорожденных 8 баллов.

При морфологическом исследовании последов в I группе хроническая компенсированная и хроническая субкомпенсированная недостаточность отмечены в равной степени и составили по 37,5 %. Во II группе хроническая субкомпенсированная плацентарная недостаточность с острыми дисциркуляторными расстройствами наблюдалась в 62,5 %. В группе контроля морфологических признаков плацентарной недостаточности не выявлено.

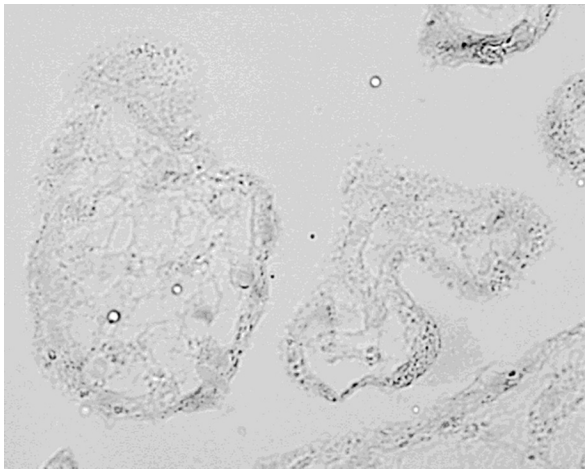

Рис. 3. Экспрессия серотонина во II группе, ×400

Экспрессия серотонина была выявлена во всех структурных элементах ворсинчатого хориона: синцитиотрофобласте **(СТБ)**, синцитиокапиллярных мембранах, синцитиальных почках и узлах, единичных клетках стромы и эндотелии сосудов. Площадь экспрессии серотонина в I и II группах была достоверно меньше, чем в группе III — группе контроля (p < 0,001). В плацентах первой группы площадь экспрессии серотонина почти в 2 раза меньше (1,30 ± 0,04 %), чем в группе контроля (2,18 ± 0,02 %). В группе с плацентарной недостаточностью и гестозом величина площади экспрессии серотонина составила в периферических участках плаценты 0,74 ± 0,01 %, что в 2,9 раза меньше, чем в группе контроля, а в центральных участках — 0,57 ± 0,01 % (в 6,8 раза меньше, p < 0,001). При этом, чем больше выражена плацентарная недостаточность, тем ниже площадь экспрессии серотонина (табл. 2, рис. 1–3). Оптическая плотность серотонина в тканях плацент достоверно не различается и составляет во

Таблица 3

Экспрессия мелатонина в плаценте

Показатели экспрессии	I группа, n = 15		II группа, n = 17		Контроль, n = 10	
	периферия M ± m, %	центр M ± m, %	периферия M ± m, %	центр M ± m, %	периферия M ± m, %	центр M ± m, %
Средняя площадь экспрессии	7,64 ± 0,04**	8,46 ± 0,05**	3,22 ± 0,02**	3,30 ± 0,01**	6,89 ± 0,03	8,96 ± 0,04
Степень экспрессии	0,44 У.Е.					

* — p < 0,01 по отношению к группе контроля; ** — p < 0,001 по отношению к группе контроля

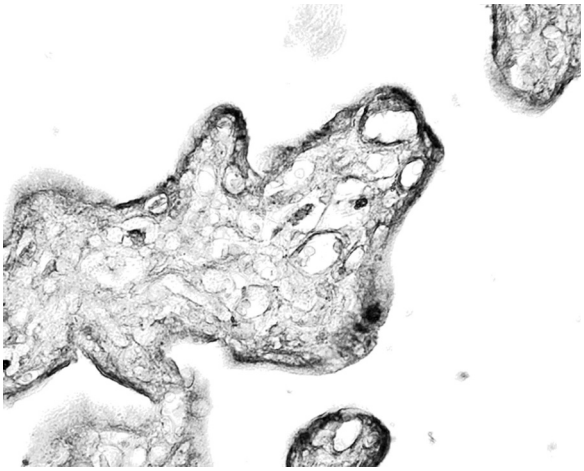

Рис. 4. Экспрессия мелатонина в плацентарной ткани в группе контроля, ×400

Рис. 5. Экспрессия мелатонина в I группе, ×400

всех группах 0,44 У.Е. Экспрессия мелатонина также выявлена во всех структурных элементах ворсинчатого хориона: СТБ, синцитиокапиллярных мембранах, синцитиальных почках и узлах, единичных клетках стромы и эндотелии сосудов. В плацентах I группы площадь экспрессии мелатонина была выше, чем во II группе. Площадь экспрессии мелатонина во II группе была достоверно меньше, чем в группе III — группе контроля ($p < 0,001$). Так, в группе с плацентарной недостаточностью и гестозом величина площади экспрессии мелатонина в 2,1 раза меньше, чем в группе контроля, и составила в периферических

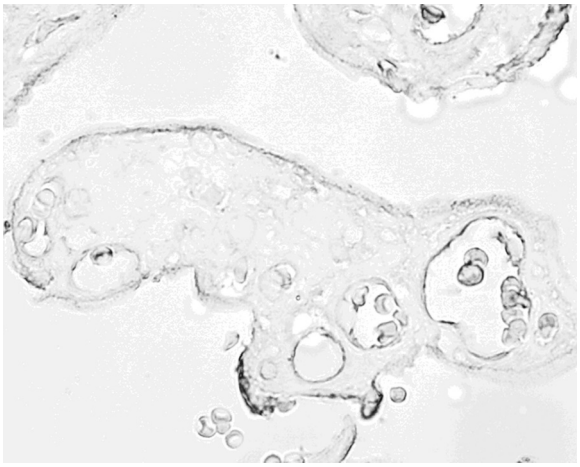

Рис. 6. Экспрессия мелатонина во II группе, ×400

участках плаценты 3,22 ± 0,02 %, а в центральных участках — 3,30 ± 0,01 % (табл. 3, рис. 4–6). Оптическая плотность мелатонина в тканях плацент достоверно не различалась и составила во всех группах 0,44 У.Е.

Заключение

Учитывая ангиотропные и общерегуляторные эффекты действия серотонина и мелатонина, по-видимому, снижение их экспрессии в плаценте связано с нарушением микроциркуляции, трофики и пролиферации клеточных элементов плаценты, которые являются морфологическим выражением патофизиологических механизмов развития плацентарной недостаточности.

Литература

1. *Айламазян Э.К.* Молекулярная нейроиммуноэндокринология: роль и значение в регуляции репродуктивной функции / Айламазян Э.К., Кветной И.М. // Ж. акуш. жен. болезн. — 2003. — Т. LII, Вып. 4. — С. 7.
2. *Афанасьева Н.В.* Исходы беременности и родов при фетоплацентарной недостаточности различной степени тяжести / Афанасьева Н.В., Стрижаков А.Н. // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. — 2004. — Т. 3, № 2. — С. 7–13.
3. *Вихляева Е.М.* Синдром недостаточности плаценты / Вихляева Е.М. // Актуальные проблемы перинатологии. — М.: Медицина, 1983. — С. 134–136.
4. *Гармашева Н.Л.* Патофизиологические основы охраны внутриутробного развития человека / Гармашева Н.Л., Константинова Н.Н. — Л.: Медицина, 1985. — 159 с.

5. *Демидович Е.О.* Особенности плодового почечного кровотока при фетоплацентарной недостаточности / Демидович Е.О., Игнатко И.В. // Материалы V Российского форума «Мать и дитя». — М., 2003. — С. 56–57.
6. *Кошелева Н.Г.* Новые подходы к лечению угрожающих преждевременных родов / Кошелева Н.Г., Аржанова О.Н., Громыко Ю.Л. // Вестник Российской ассоциации акушеров-гинекологов. — 1996. — № 1. — С. 55–60.
7. *Кузнецова А.В.* Клинико-морфологическая характеристика плацентарной недостаточности / Кузнецова А.В., Аржанова О.Н. // Критические состояния в акушерстве и неонатологии. — Петрозаводск, 2005. — С. 118–119.
8. *Макаров И.О.* Современный взгляд на патогенез фетоплацентарной недостаточности / Макаров И.О., Сидорова И. С. // Материалы VII Российского форума «Мать и дитя». — М., 2005. — С. 134.
9. *Малиновская Н.К.* Роль мелатонина в организме человека / Малиновская Н.К. // Клиническая медицина. — 1998. — Т. 76, № 10. — С. 15–19.
10. *Милованов А.П.* Патология системы мать-плацента-плод: руководство для врачей / Милованов А.П. — М.: Медицина, 1999. — 448 с.
11. *Орджоникидзе Н.В.* Новое в лечении беременных с синдромом задержки развития плода / Орджоникидзе Н.В., Клименко П.А., Дживилегова Г.Д. // Акуш. и гин. — 1996. — № 3. — С. 32–36.
12. *Савельева Г.М.* Плацентарная недостаточность / Савельева Г.М., Федорова М.В., Клименко П.А., Сичинава Л.Г. — М.: Медицина, 1991. — 276 с.
13. *Серов В.Н.* Плацентарная недостаточность / Серов В.Н. // Трудный пациент. — 2005. — Т. 3, № 2. — С. 18–19.
14. *Сорокина С.Э.* Плацентарная недостаточность / Сорокина С.Э., Искрицкий А.М. // Мед. Новости. — 1997. — № 3. — С. 12–16.
15. *Федорова М.В.* Плацента и ее роль при беременности / Федорова М.В., Калашникова Е.П. — М.: Медицина, 1986. — С. 256.
16. *Федорова М.В.* Плацентарная недостаточность / Федорова М.В. // Акуш. и гин. — 1997. — № 6. — С. 40–43.
17. *Федосеев Г.Б.* Влияние эпиталамина на функциональную активность тромбоцитов у больных с аспириновой астмой / Федосеев Г.Б., Петрищев Н.Н., Евсюкова Е.В. // Пульмонология. — 1999. — № 4. — С. 14–45.
18. *Шаповаленко С.А.* Комплексная диагностика и лечение плацентарной недостаточности у беременных на разных стадиях гестации / Шаповаленко С.А. // Вестник Российской ассоциации акушеров-гинекологов. — 2001. — № 2. — С. 43–47.
19. *Fitzgerald D.J.* Decreased prostacyclin biosynthesis preceding the clinical manifestation of pregnancy-indused hypertention / Fitzgerald D.J., Entmann S.S., Mulloy K., Fitzgerald G.A. // Circulation. — 1987. — Vol. 75. — P. 956–973.
20. *Ignarro L.J.* Biological actions and properties of endothelium–derived nitric oxide formed and released from artery and vein / Ignarro L.J. // Circ. Res. — 1989. — Vol. 65. — P. 1–21.
21. *Khong T.J.* Inadequate maternal vascular response to placentation in pregnancies complicated by pre-eclampsia and by small-for-gestational age infants / Khong T.J., De Wolf F., Robertson W.B., Broseus I.A. // Br. J. Obst. Gynaecol. — 1986. — Vol. 93. — P. 1049–1059.
22. *Lee C.K.* Circadian expression of Mel(1a) and PL-II genes in placenta: effects of melatoninh on the PL-II gene expression in the rat placenta / Lee C.K., Moon D.H., Shin C.S. [et al.] // Mol Cell Endocrinol. — 2003. — Vol. 200, N 1–2. — P. 57–66.
23. *Pijnenborg K.* Establishment of uteroplacental circulation / Pijnenborg K. // Reprod. Nutr. Dev. — 1988. — Vol. 28. — P. 1581–1586.
24. *Sirotkin A.V.* Direct regulation of mammalian reproductive organs by serotonin and melatonin / Sirotkin A.V., Schaeffer H.J.// Journal of Endocrinology. — 1997. — Vol. 154. — P. 1–5.
25. *Thomas L.* The role of melatonin in the human fetus / Thomas L., Drew J.E., Abramovich D.R., Williams L.M. // Int. J. Mol. Med. — 1998. — Vol. 1, N 3. — P. 539–543.

BIOGENIC AMINES EXPRESSION IN PLACENTAL INSUFFICIENCY

Arjanova O.N., Kvetnoy I.M., Kuznecova A.V., Kolobov A.V.

■ **Summary:** There were analyses course of pregnancy, labor and delivery, placental morphology and expression of melatonin and serotonin of placental tissue in woman with gestosis and placental insufficiency. Received data confirmed active participation of locally produced biogenic amines in placental insufficiency pathogenesis.

■ **Key words:** placental insufficiency; biogenic amines; melatonin; serotonin; gestosis