

УДК 618.36-06 : 616.155.194]-056.7-07-08

*І.А. Анчева*

*Одеський національний медичний університет*

## **ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ВАСКУЛЯРНО-ЕНДОТЕЛІАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТУ (VEGF) В ПЛАЦЕНТІ У ЖІНОК З ДИСФУНКЦІЄЮ ПЛАЦЕНТИ ТА АНЕМІЄЮ**

Проведено імуногістохімічне дослідження мезенхімального фактора Vimentin і експресії судинного ендотеліального фактора росту (VEGF) в плацентах жінок, вагітність у котрих перебігала на фоні дисфункції й анемії. Показано, що при синтропії дисфункції плаценти та анемії процеси ангиогенезу порушуються більш виражено, ніж при ізольованому перебігу захворювання.

**Ключові слова:** вагітність, дисфункція плаценти, васкулярно-ендотеліальний фактор росту.

Загальновідомо, що здоров'я новонародженого в значній мірі визначається перебігом антенатального періоду [1, 2]. Дисфункція плаценти, на думку ряду авторів, зустрічається у 17–35 % вагітних. Цей патологічний стан при вагітності призводить до розвитку гіпоксії, затримки зростання і розвитку плода, а також до розвитку дистресу плода. Хронічна гіпоксія плода, у свою чергу, призводить до виникнення функціональних порушень з боку ЦНС новонародженого [3–6].

При залізодефіцитній анемії вагітних клінічно важливі морфологічні прояви синдрому плацентарної недостатності, що починаються з 13-го тижня гестації, локалізуються не тільки в хоральному дереві, але також у спіральних артеріях матково-плацентарної ділянки [4, 7, 8].

Васкулогенез – утворення і розвиток кровоносних судин з мезодермальних клітин-попередників, тоді як ангиогенез – це створення нових судин з уже існуючих. Обидва процеси мають вирішальне значення, тому що від них залежить ефективно транспортування кисню, нутрієнтів і виведення продуктів обміну речовин. Процеси васкулогенезу в плаценті починаються в кінці третього тижня вагітності, коли клітини мезенхіми в межах ворсин диференціюються в гемангіобласти, а потім частина з них трансформується в ендотеліальні клітини [9].

Порушення секреції проангіогенних і антиангіогенних факторів у плаценті може ста-

ти причиною порушення процесів ангиогенезу в ній, що, у свою чергу, призведе до дисфункції плаценти та ендотеліальних клітин. Зниження секреції проангіогенного фактора VEGF ендотеліальними клітинами плаценти може бути причиною порушення процесів ангиогенезу в плаценті [10, 11].

Провідну роль у розвитку судин плаценти відводять сімейству фактора росту ендотелію судин (vascular endothelial growth factor – VEGF), що включає різні ізоформи VEGF і плацентарний фактор росту (placenta growth factor – PLGF). VEGF є одним з найпотужніших і домінуючих проангіогенних факторів і найважливішим з описаних факторів ангиогенезу. Він забезпечує збереження вже наявних судин, сприяє появі структурних і функціональних порушень (наприклад, звивистості і підвищеної проникності), а також стимулює зростання нових судин.

Судинна мережа плаценти володіє пластичністю і динамічно змінюється протягом вагітності. Розвиток плаценти знаходиться під контролем різних цитокінів і ростових факторів, співвідношення яких змінюється в процесі вагітності [1, 12].

За даними ряду авторів, на ранніх етапах розвитку в порівнянні з третім триместром вагітності тканина плаценти виробляє більшу кількість проангіогенних факторів VEGF. До третього триместру спостерігається зниження експресії VEGF, але збільшується продукція ангиогеніну. У тканині плаценти, що без-

© І.А. Анчева, 2014

перервно розвивається, спостерігається переважання ангіогенних факторів, у той же час антиангіогенні фактори грають істотну роль у формуванні тканини плаценти, забезпечуючи гальмування ангіогенезу [13].

VEGF контролює всі стадії ангіогенезу, бере участь у формуванні первинних ендотеліальних трубок судин, а також збільшує життєздатність ендотеліальних клітин, захищаючи їх від апоптозу. VEGF виявився зручним молекулярним маркером зростання, дослідження експресії якого дає можливість оцінити активність ангіогенезу в тканині та прогнозувати розвиток судинної системи.

**Матеріал і методи.** Дослідження виконано на клінічних базах кафедри акушерства і гінекології № 1 ОНМедУ (м. Одеса) та патоморфологічного відділення ДУ «ІПАГ НАМНУ» (м. Київ).

Було досліджено по 10 плацент від жінок трьох груп: 1-ша – з фізіологічним перебігом вагітності і пологів; 2-га – вагітність яких перебігала на тлі анемії; 3-тя – вагітність яких перебігала з дисфункцією плаценти і анемією – 10 спостережень.

Пацієнтки усіх груп були обстежені згідно Наказу МОЗ України від 15.07.2011 № 417 «Методичні рекомендації щодо організації надання амбулаторної акушерсько-гінекологічної допомоги».

Усі пацієнтки народжували при доношених термінах вагітності під адекватним знеболюванням. Критеріями виключення були багатопліддя, прееклампсія, важка екстрагенітальна патологія пацієнток (цукровий діабет, захворювання серцево-судинної, дихальної і травної систем), природжені і спадкові захворювання плода.

Були використані імуногістохімічні методи дослідження.

Непрямий стрептавідин-пероксидазний метод виявлення рівня експресії МКАТ мезенхімального фактора Vimentin. Протокол забарвлення: депарафінізація шматочків тканини на скло, блокування ендогенної пероксидази 3%-вим розчином пероксиду водню, обробка предметного скла водою, блокування неспецифічних протеїнових сполук двома краплями 1%-вого BSA, промивання в PBS-буфері, нанесення первинних антитіл до антигену Vimentin (фірма ДАКО, Данія) 1 год. Промивання в PBS-буфері і нанесення вторинних антитіл. Промивання в PBS-буфері, нанесення двох крапель комплексу стрептавідин – пе-

роксидаза та інкубація протягом 30 хв, промивання і нанесення АЕС - хромоген розчину – інкубація від 5 до 20 хв до появи коричневого забарвлення.

Непрямий стрептавідин-пероксидазний метод виявлення рівня експресії VEGF (фірма ДАКО, Данія). Протокол забарвлення і методика виконання такі ж самі, як і попереднього методу.

Розповсюдженість і інтенсивність реакції оцінювали напівкількісним методом в балах (від 0 до 3):

а) 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;

б) інтенсивність реакції: 0 – немає видимого забарвлення; 1 – слабе забарвлення; 2 – помірне забарвлення; 3 – виразне забарвлення.

Отримані дані обробили методами варіаційної статистики.

**Результати.** При імуногістохімічному дослідженні мезенхімального фактора Vimentin виявлена виражена інтенсивність експресії останнього в базальних мембранах судин ворсинки з ангіогенезом (рис. 1, 2).

Оскільки в проліферації ендотеліоцитів найбільш істотну роль грає один з факторів росту – васкулярно-ендотеліальний (VEGF), нами була вивчена інтенсивність експресії цього фактора в структурах плацентарного бар'єра. Результати дослідження показали, що при залізодефіцитній анемії відзначено нерівномірне збільшення експресії МКАТ даного фактора

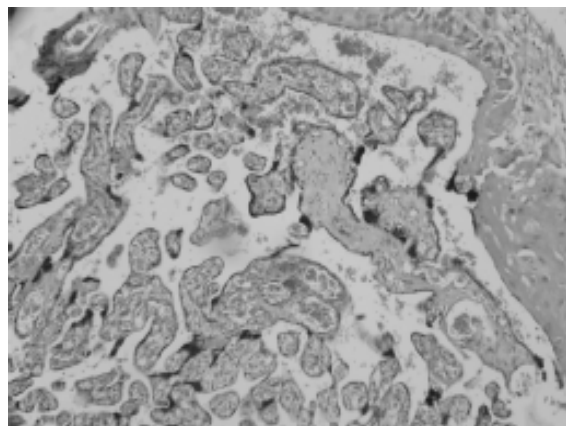


Рис. 1. Плацента жінки 2-ї групи.

Компенсаторні реакції в плаценті у вигляді збільшення спеціалізованих термінальних ворсин, а також ангіоматоз ворсин. Забарвлення гематоксилін-еозіном. Ок.10; Об.10

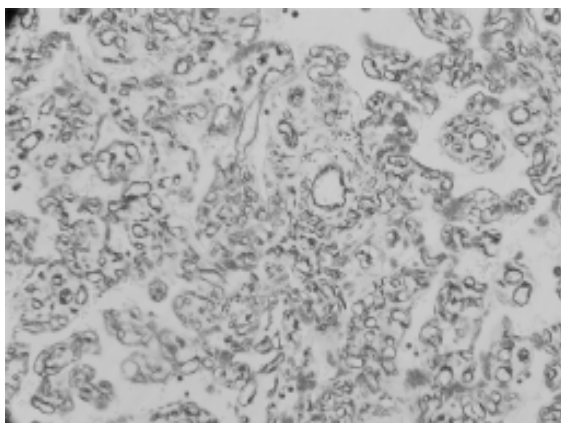


Рис. 2. Плацента жінки 3-ї групи. Експресія мезенхімального фактора з МКАТ до Vimentin 2–3 бали в базальних мембранах судин ворсинок з ангиогенезом. Непрямий стрептавідин-пероксидазний метод виявлення експресії. Ок. 10; Об. 10

в стінці судин термінальних ворсин і клітинах периферичного цитотрофобласта (рис. 3), що свідчить про вираженість процесів компенсації у вигляді активації ангиогенезу.

Так, якщо у 1-й та 2-й групах експресія МКАТ не перевищувала 1 бал, то у 3-й групі у переважній більшості зразків рівень експресії відповідав 2–3 балам як у клітинах периферичного цитотрофобласта, так і в ендотелії судин.

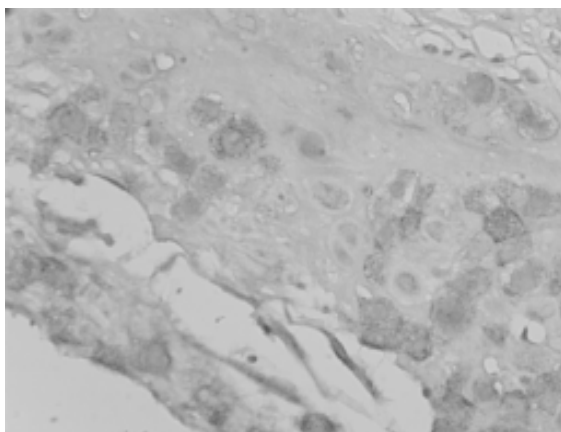


Рис. 3. Плацента жінки 2-ї групи. Інтенсивність експресії МКАТ до VEGF в стінці судин термінальних ворсин і клітинах периферичного цитотрофобласта. Непрямий стрептавідин-пероксидазний метод виявлення експресії. Ок 10; Об. 20

Спостерігається також нерівномірність інтенсивності експресії МКАТ до васкулярно-ендотеліального фактора зростання (VEGF)

в клітинах периферичного цитотрофобласта (рис. 4).

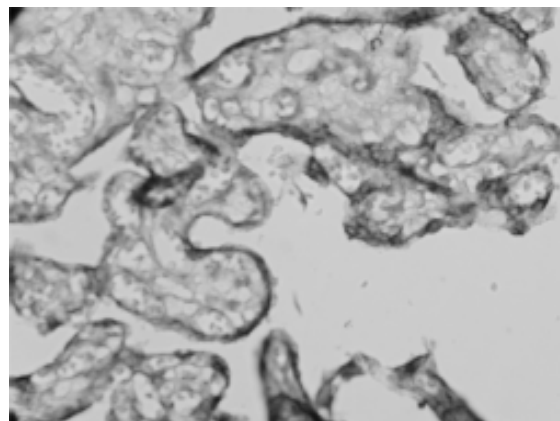


Рис. 4. Плацента жінки 3-ї групи. Нерівномірність інтенсивності експресії МКАТ до VEGF в клітинах периферичного цитотрофобласта. Непрямий стрептавідин-пероксидазний метод виявлення експресії. Ок 10; Об. 20

Наведене свідчить на користь припущення, що при залізодефіцитній анемії у вагітних виникають компенсаторні реакції, спрямовані на покращення перфузії структурних елементів фетоплацентарного комплексу, в тому числі на активацію ангиогенезу.

Однак не можна виключити розвиток при цьому ендотеліальної дисфункції, яка може служити причиною розвитку структурних змін у плаценті, порушення процесів ангиогенезу і, як наслідок, розвитку плацентарної недостатності, пре- і постнатальної патології плода при вагітності, ускладненій гіпохромною залізодефіцитною анемією.

#### Висновки

1. Імуногістохімічне дослідження мезенхімального фактора Vimentin виявило виражену інтенсивність експресії останнього в базальній мембрані судин ворсинок з ангиогенезом.

2. Результати дослідження експресії МКАТ васкулярно-ендотеліального фактора росту (VEGF) свідчать про нерівномірне збільшення інтенсивності даного фактора в стінці судин термінальних ворсин і клітинах периферичного цитотрофобласта.

**Перспективи подальших досліджень** можуть бути пов'язані із дослідженням рівня експресії нітроксидсинтази в плаценті жінок, що страждали на дисфункцію плаценти та залізодефіцитну анемію протягом вагітності.

### Література

1. Роль проангиогенных и антиангиогенных факторов в развитии плаценты / Д.И. Соколов, А.В. Колобов, М.В. Лесничия [и др.] // Медицинская иммунология. – 2008. – Т. 10, № 4–5. – С. 347–352.
2. Чайковская И.В. Эндотелиальная дисфункция и ее роль при патологических процессах / И.В. Чайковская, О.А. Семенова // Унів. клініка. – 2011. – № 7 (2). – С. 210–213.
3. Давиденко І.С. Проліферативна активність цитотрофобласта в хоріальних ворсинах при залізодефіцитній анемії вагітних у термін гестації 5–27 тижнів / І.С. Давиденко // Запорізький медичний журнал. – 2006. – № 1. – С. 37–40.
4. Эндотелиальная дисфункция в генезе перинатальной патологии / Г.Т. Сухих, Е.М. Вихляева, Л.В. Ванько [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2008. – № 5 – С. 3–7.
5. Shin Y.J. Induction of vascular endothelial growth factor receptor-3 mRNA in glial cells following focal cerebral ischemia in rats / Y.J. Shin, J.S. Choi // J. Neuroimmunol. – 2010. – Vol. 229 (1–2). – P. 81–90.
6. Fetal cardiac output and its distribution to the placenta at 11–20 weeks of gestation / T. Vimpeli, H. Nuhtala, T. Wilsgaard, G. Acharya // Ultrasound Obstet. Gynecol. – 2009. – Vol. 33. – P. 265–271.
7. Давиденко І.С. Органометричні параметри плаценти при поєднанні залізодефіцитної анемії вагітних та хронічної плацентарної недостатності / І.С. Давиденко // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2005. – Т. 4, № 4. – С. 27–29.
8. Давиденко І.С. Морфологічна характеристика структур матково-плацентарної ділянки в різні терміни гестації при залізодефіцитній анемії у вагітних / І.С. Давиденко // Клінічна та експериментальна патологія. – 2005. – Т. IV, № 3. – С. 49–53.
9. Charnock-Jones D.S. Aspects of human fetoplacental vasculogenesis and angiogenesis. I. Molecular regulation / D.S. Charnock-Jones, P. Kaufmann, T.M. Mayhew // Placenta. – 2004. – Vol. 25. – P. 103–113.
10. Баранов В.С. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины / В.С. Баранов. – СПб. : Изд-во Н-Л, 2009. – 528 с.
11. Placental expression of VEGF family mRNA in adverse pregnancy outcomes / P.H. Andraweera, G.A. Dekker, J.A. Laurence, C.T. Roberts // Placenta. – 2012. – Vol. 33 (6). – P. 467–472.
12. Roberts D. The vascular endothelial growth factor (VEGF) receptor Flt-1(VEGFR-1) modulates Flk-1 (VEGFR-2) signaling during blood vessel formation / D. Roberts // A.J. pathology. – 2004. – Vol. 164. – P. 1531–1535.
13. Brouillet S. EG-VEGF controls placental growth and survival in normal and pathological pregnancies: case of fetal growth restriction (FGR) / S. Brouillet, P. Murthi, P. Hoffmann // Cell Mol Life Sci. – 2013. – Vol. 70 (3). – P. 511–525.

#### И.А. Анчева

#### ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ВАСКУЛЯРНО-ЭНДОТЕЛИАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА (VEGF) В ПЛАЦЕНТЕ У ЖЕНЩИН С ДИСФУНКЦИЕЙ ПЛАЦЕНТЫ И АНЕМИЕЙ

Проведено исследование мезенхимального фактора Vimentin, а также экспрессии сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) в плацентах женщин, беременность которых протекала на фоне дисфункции и анемии. Показано, что при синтропии дисфункции плаценты и анемии процессы ангиогенеза нарушаются более выражено, чем при изолированном течении заболевания.

**Ключевые слова:** беременность, дисфункция плаценты, васкулярно-эндотелиальный фактор роста.

#### I.A. Ancheva

#### IMMUNOHISTOCHEMICAL FEATURE VASCULAR-ENDOTHELIAL FACTOR OF GROWTH (VEGF) IN PLACENTA FOR WOMEN WITH DYSFUNCTION OF PLACENTA AND ANEMIA

It were studied the mesenchymal Vimentin factor, as well as the expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in the placenta of pregnant women suffering from placenta dysfunction and anemia. There was shown that at syntropy of placenta dysfunction and anemia processes of angiogenesis violated more pronounced than an isolated diseases.

**Key words:** pregnancy, placenta dysfunction, vascular endothelial growth factor.

Поступила 03.06.14