

УДК 616.36:616.12-053.1+616.155.194

Л.П. Бутенко, С.М. Килихевич, Ю.В. Давидова
**Роль проангіогенних факторів у формуванні
структур плацентарного бар'єру у вагітних
із вродженими вадами серця та анемією**

ДУ «Інститут педіатрії, акушерства та гінекології імені академіка О.М. Лук'янової НАМН України», м. Київ

PERINATOLOGY AND PEDIATRIC. UKRAINE. 2018.3(75):27-30; doi 10.15574/PP.2018.75.27

Мета — вивчити експресію плацентарного фактора росту в плацентах жінок із вродженими вадами серця, серцевою недостатністю та анемією; ретроспективно оцінити процес ангіогенезу в структурах плацентарного бар'єру в цій групі жінок.

Пацієнти та методи. Проаналізовано за методикою «Паспорт плаценти» (Протокол дослідження плаценти. Форма № 013–1/0, затверджено наказом МОЗ України № 417 від 19.08.2004) морфофункціональні особливості 120 плацент жінок із вродженими вадами серця та анемією, а також проведено імуногістохімічні дослідження з вивчення експресії PIGF у структурах плацентарного бар'єру в цих плацентах. Використано непрямий стрептавідин-пероксидазний метод виявлення рівня експресії PIGF. Контрольну групу сформовано з 30 результатів аналогічних досліджень у жінок із фізіологічним перебігом вагітності, відсутністю вроджених вад серця та анемії.

Результати та висновки. За даними імуногістохімічного дослідження експресії PIGF у структурах плацентарного бар'єру жінок з оперованими та неоперованими вродженими вадами серця та анемією можна зробити висновок про значний вплив фактора гіпоксії на формування плацентарного бар'єру в ранніх термінах гестації, обумовлений, на нашу думку, гіпооксигенацією тканин унаслідок серцевої недостатності та зниження насиченості еритроцитів киснем. У цій групі жінок слід проводити прекоцепційне консультування, за результатами якого можна проводити заходи прегравідарної підготовки, включаючи профілактику прихованого дефіциту заліза та прогресування серцевої недостатності.

Ключові слова: плацентарний фактор росту, вагітні, вроджені вади серця, анемія.

**Role of proangiogenic factors in the formation of placental barrier structures
in pregnant women with congenital heart defects and anaemia**

L.P. Butenko, S.M. Kihlevych, Iu.V. Davydova

SI «Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology by academician O.M. Lukyanova of NAMS of Ukraine», Kyiv

Objective: to study the expression of placental growth factor (PGF) in the placenta of women with congenital heart defects, heart failure and anaemia; retrospectively evaluate the process of angiogenesis in the placental barrier structures in this group of women.

Materials and methods. The morphological and functional features of 120 placentas of women with congenital heart defects and anaemia were analysed using the «Placenta passport» method (Placenta study protocol. Form No. 013–1/0, approved by the order of the Ministry of Health of Ukraine No. 417 dated August 19, 2004), and immune histochemical tests were conducted to study PIGF expression in placental barrier structures in these placentas. An indirect streptavidin-peroxidase method was used to detect the expression PIGF level. The control group composed of 30 results of similar tests in women with a physiological pregnancy, the absence of congenital heart defects and anaemia.

Results and conclusions. According to immune histochemical test of the PIGF expression in the placental barrier structures of women with operated and non-operated congenital heart defects and anaemia, inference should be drawn that the hypoxia has a substantial impact on the placental barrier formation in the early stages of gestation; is secondary, in our opinion, to the hypo-oxygenation of tissues due to heart failure and a decrease in the oxygen saturation of erythrocytes. In this group of women, preconceptional counselling should be conducted, based on the results of which can be carried out the pregravid preparation, including prevention of latent iron deficiency and heart failure progression.

Key words: placental growth factor, pregnant women, congenital heart defects, anaemia.

**Роль проангіогенних факторів у формуванні структур плацентарного бар'єра
у вагітних з вродженими пороками серця та анемією**

Л.П. Бутенко, С.М. Килихевич, Ю.В. Давидова

ГУ «Інститут педіатрії, акушерства та гінекології імені академіка Е.Н. Лук'янової НАМН України», г. Київ

Цель — изучить экспрессию плацентарного фактора роста в плацентах женщин с врожденными пороками сердца, сердечной недостаточностью и анемией; ретроспективно оценить процесс ангиогенеза в структурах плацентарного барьера в этой группе женщин.

Пациенты и методы. Проанализирован по методике «Паспорт плаценты» (Протокол исследования плаценты. Форма № 013–1/0, утвержден приказом МЗ Украины № 417 от 19.08.2004) морфофункциональные особенности 120 плацент женщин с врожденными пороками сердца и анемией, а также проведено иммуногистохимическое исследование по изучению экспрессии PIGF в структурах плацентарного барьера в этих плацентах. Использован непрямой стрептавидин-пероксидазный метод выявления уровня экспрессии PIGF. Контрольная группа сформирована из 30 результатов аналогичных исследований у женщин с физиологическим течением беременности, отсутствием врожденных пороков сердца и анемии.

Результаты и выводы. По данным иммуногистохимического исследования экспрессии PIGF в структурах плацентарного барьера женщин с оперируемыми и неоперируемыми врожденными пороками сердца и анемией можно сделать вывод о значительном влиянии фактора гипоксии на формирование плацентарного барьера в ранних сроках гестации, обусловленном, по нашему мнению, гипоксигенацией тканей вследствие сердечной недостаточности и снижения насыщенности эритроцитов кислородом. В этой группе женщин следует проводить прекоцепционное консультирование, по результатам которого можно проводить мероприятия прегравидарной подготовки, включая профилактику скрытого дефицита железа и прогресса сердечной недостаточности.

Ключевые слова: плацентарный фактор роста, беременные, врожденные пороки сердца, анемия.

Актуальність

У клініці вагітних із коморбідністю, зокрема, з патологією серцево-судинної системи, вирішальне значення має створення умов для фізіологічного перебігу вагітності жінкам із вродженими вадами серця (ВВС). Наявність ВВС у вагітних свідчить про ранні порушення перебігу гестаційного періоду в їхніх матерів, унаслідок того, що морфологічні зміни серця та судин відбуваються до 6-го тижня гестації.

Також дуже важливим є попередження анемії в цій групі жінок, оскільки поєднання гіпоксигенації тканин унаслідок дисциркуляторних порушень та збіднення еритроцитів киснем негативно впливають на перебіг ембріона та хоріогенезу. Це може призводити до порушень ангиогенезу, а це, своєю чергою, спричиняє розвиток гіпертензивних ускладнень вагітності, додатково обтяжує перебіг вагітності в жінок із серцевою недостатністю та може зумовити дострокове розродження жінок із поєднаною коморбідністю та ускладненнями вагітності.

Одним із факторів, що достовірно впливає на ангиогенез та ендотеліальну дисфункцію, є плацентарний фактор росту (placental growth factor — PlGF). Уперше проангіогенна роль PlGF встановлена у 1997 р. [3, 6, 8].

Доведено, що вагітність є фізіологічним випробуванням для материнської серцево-судинної системи. Під час вагітності збільшується об'єм циркулюючої крові, серцевого викиду, транзиторна гіпертрофія серця, а також реструктуризація судин через децидуалізований ендометрій. Саме на реконструкцію судин, яка включає ранній неоангіогенез та пізні remodelювання спіральних артерій, і впливає PlGF. Концентрація його у плазмі коливається під час вагітності: збільшується з I триместру, досягає піку у 26–30 тижнів (період максимального гемодинамічного навантаження) і зменшується до терміну 37–40 тижнів [5, 7, 8].

У подальших дослідженнях визначено, що проангіогенна активність сімейства VEGF (до якого належить PlGF) реалізується через активацію 2 тирозинкіназних (ТК) рецепторів, що спочатку ідентифіковані як рецептори для VEGF-A: VEGFR-1, VEGFR-2 і складаються з 7 позаклітинних Ig-подібних доменів, а трансмембранний домен та внутрішньоклітинний ТК-домен (тирозинкінази) активують димеризацію та фосфорилування. Незважаючи на тривимірну подібність із VEGF-A, PlGF

має властивість зв'язувати виключно VEGFR-1 рецептор, з високою спорідненістю порівняно з VEGF-A і VEGF-B (рис. 1) [1, 3, 4].

Слід зазначити, що зв'язування VEGFA з VEGFR1 не дає значної рецепторної активації, тоді як зв'язування VEGFB з VEGFR1 сприяє виживанню клітин. VEGFA також може зв'язуватися з VEGFR2, хоч і з нижчою спорідненістю, але це вважається ключовим регулятором ангиогенезу, що сприяє міграції ендотеліальних клітин та їх проліферації [2, 4].

У багатьох експериментальних дослідженнях щодо посилення та пригнічення функцій PlGF виявлено, що супрафізіологічний рівень PlGF сприяє патологічному ангиогенезу, що діє на різних рівнях, а саме, може безпосередньо стимулювати ріст судин, діючи на зростання, міграцію та виживання ендотеліоцитів, а також на дозрівання судин за рахунок збільшення проліферації гладком'язових клітин та підтримки проліферації фібробластів [1, 3].

Слід підкреслити, що PlGF має вирішальне значення для формування судин за рахунок впливу на клітини-прогенітори ендотеліоцитів, отримані з кісткового мозку. Також PlGF лінійно сприяє диференціюванню та активації моноцитів-макрофагів, за рахунок яких підтримується ангиогенний стимул [1, 4].

Транскрипція PlGF є виразною в трофобластичних гігантських клітинах, пов'язаних із жовточним мішком на початкових етапах ембріогенезу, що доводить його роль в координації васкуляризації плаценти під час раннього ембріогенезу [2, 3].

Мета дослідження — вивчити експресію плацентарного фактора росту в плацентах жінок із вродженими вадами серця, серцевою недостатністю та анемією; ретроспективно оцінити процес ангиогенезу в структурах плацентарного бар'єру в цій групі жінок.

Матеріали та методи дослідження

Проаналізовано за методикою «Паспорт плаценти» (Протокол дослідження плаценти. Форма № 013–1/0, затверджено наказом МОЗ України № 417 від 19.08.2004) морфофункціональні особливості 120 плацент жінок із ВВС та анемією, а також проведено імуногістохімічні дослідження з вивчення експресії PlGF у структурах плацентарного бар'єру в цих плацентах. Використано непрямий стрептавідин-пероксидазний метод виявлення рівня експресії PlGF. Контрольну групу сформовано з 30 результатів аналогічних досліджень

Таблиця

Висока експресія PlGF у структурах плацентарного бар'єру (3 бали), %

| Група жінок | Строма ворсин | Децидуальна оболонка | Ендотелій ворсин | Епітелій ворсин |
|-------------------|---------------|----------------------|------------------|-----------------|
| 1-ша (n=22) | 81,8* ** | 27,2* | 44,4* | 22,7* |
| 2-га (n=25) | 48,0*** | 24,0*** | 44,0*** | 20,0*** |
| 3-тя (n=35) | 42,8**** | 17,1**** | 34,2**** | 17,1**** |
| 4-та (n=38) | 21,1 | 13,1 | 23,7 | 10,5 |
| Контрольна (n=30) | 6,7 | 3,3 | 6,7 | 6,7 |

Примітки: * – p<0,001 при порівнянні 1 та 3-ї груп (неоперовані ВВС з анемією відносно неоперованих ВВС без анемії); ** – p<0,001 при порівнянні 1 та 2-ї груп (неоперовані ВВС з анемією відносно оперованих ВВС без анемії); *** – p<0,001 при порівнянні 2 та 4-ї груп (оперовані ВВС з анемією відносно оперованих ВВС без анемії); **** – p<0,001 при порівнянні 3 та 4-ї груп (неоперовані ВВС без анемії відносно оперованих ВВС без анемії).

у жінок із фізіологічним перебігом вагітності, відсутністю ВВС та анемії. До 1-ї групи віднесено 22 плаценти жінок із неоперованими вродженими вадами серця (СН-I-II) та анемією, до 2-ї групи – 25 плацент жінок з оперованими вродженими вадами серця (СН 0-I) та анемією, до 3-ї групи – 35 плацент жінок із неоперованими вродженими вадами серця (СН-I-II) без анемії, до 4-ї групи – 38 плацент жінок з оперованими вродженими вадами серця (СН 0-I) без анемії.

Дослідження виконано згідно з принципами Гельсінської Декларації. Протокол дослідження ухвалено Локальним етичним комітетом зазначеної в роботі установи. На проведення досліджень отримано поінформовану згоду жінок.

Результати дослідження та їх обговорення

Під час імуногістохімічного аналізу виявлено PlGF у різних структурах плацентарного бар'єру жінок із ВВС та анемією. Експресія PlGF у 2–3 та 3 бали свідчить про значний вплив гіпоксії як подразника на ранніх етапах ембріо- та ангиогенезу, що призвів до стимуляції формування судин у структурах фетоплацентарного комплексу (ФПК), (табл.).

Під час імуногістохімічного дослідження експресії PlGF у групах жінок із ВВС та анемією відмічалася менш виражена експресія в плацентах жінок із неоперованими ВВС (рис. 2) порівняно з оперованими ВВС (рис. 3). Це свідчить про дисбаланс етапів раннього ангиогенезу в групі жінок із ВВС та анемією, зокрема, про активацію формування судин, при чому в адаптації ФПК до дії гіпоксії активну участь бере ендотелій судин і строма ворсинок.

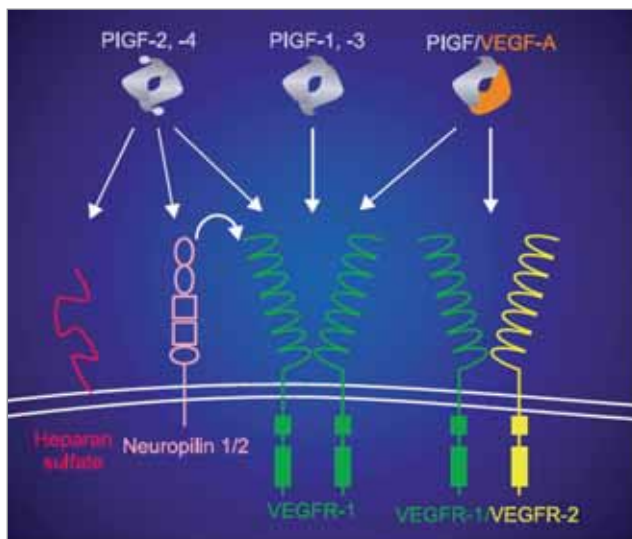


Рис. 1. Схематичне зображення зв'язувальних властивостей ізоформ формації PlGF (1, 2, 3, 4) із гетеродіаметром PlGF/VEGF [3]

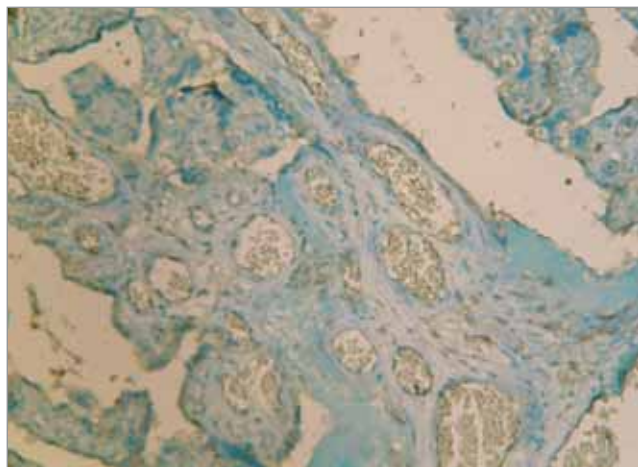


Рис. 2. Осередки експресії PlGF у стромі ворсин плаценти жінки з неоперованою тетрадою Фалло

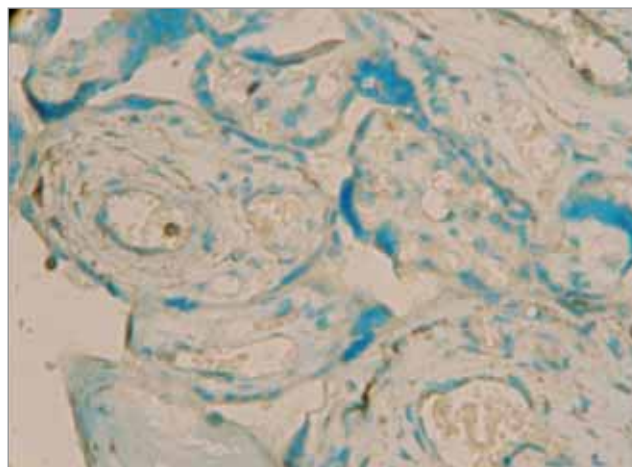


Рис. 3. Осередки експресії PlGF у стромі ворсин плаценти жінки з оперованою тетрадою Фалло

За даними таблиці, найбільш виражена експресія PlGF відмічалася в стромі ворсин плацент 1-ї групи. Це свідчить про необхідність виявлення анемії на етапі до настання вагітності в зазначеній групі жінок, проведення відповідного лікування та забезпечення старту вагітності при рівні гемоглобіну не нижче 120 г/л. Такий підхід забезпечить сприятливі умови для формування судин і дасть змогу уникнути впливу оксидантного стресу на ендотеліальну функцію жінок та їхніх дітей.

Водночас дуже важливим є вчасне проведення відповідних оперативних втручань для корекції ВВС, зокрема, за наявності серцевої недостатності у таких жінок. Під час порівняння експресії PlGF плацент жінок 1 та 2-ї груп до негативного впливу саме анемічного синдрому додається вплив гіпооксигенації тканин унаслідок дисгармонізації циркуляції. Показник експресії PlGF у стромі ворсин майже удвічі вищий у 1-й групі порівняно з 2-ю групою.

Подібна тенденція спостерігалася під час аналізу показників 3 та 4-ї груп, показник експресії зазначеного фактора достовірно вищий у групі жінок із неоперованими ВВС.

Однак вважаємо, що виключно підвищенням регуляції PlGF у клітинах, які піддаються впливу гіпоксії, неможливо пояснити повний спектр постгіпоксичних змін у плацентарних структурах за підходом промоутер / енхансер та виявити послідовність залучення структур, що реагують на гіпоксію, як це виявлено для VEGF-A і VEGFR-1 рецепторів.

Висновки

За даними імуногістохімічного дослідження експресії PlGF у структурах плацентарного бар'єру жінок з оперованими та неоперованими ВВС та анемією можна зробити висновок про значний вплив фактора гіпоксії на формування плацентарного бар'єру в ранніх термінах гестації, обумовлений, на нашу думку, гіпооксигенацією тканин унаслідок серцевої недостатності та зниження насиченості еритроцитів киснем. У цій групі жінок слід проводити прекоцепційне консультування, за результатами якого можна проводити заходи прегравідарної підготовки, включаючи профілактику прихованого дефіциту заліза та прогресування серцевої недостатності.

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Boucher JM, Clark RP, Chong DC, Citrin KM, Wylie LA, Bautch VL. (2017). Dynamic alterations in decoy VEGF receptor-1 stability regulate angiogenesis. *Nat Commun.* 8: 156–199.
2. Carnevale D, Lembo G. (2012). Placental growth factor and cardiac inflammation. *Trends Cardiovasc Med.* 22: 209–212.
3. De Falco S. (2012). The discovery of placenta growth factor and its biological activity. *Experimental & Molecular Medicine.* 44: 1–9.
4. Djordjevic S, Driscoll PC. (2013). Targeting VEGF signalling via the neuropilin co-receptor. *Drug. Discov Today.* 18 (9–10): 447–455.
5. Harris LK, Aplin JD. (2007). Vascular remodeling and extracellular matrix breakdown in the uterine spiral arteries during pregnancy. *Reprod Sci.* 14: 28–34.
6. Holmes DI, Zachary I. (2005). The vascular endothelial growth factor (VEGF) family: angiogenic factors in health and disease. *Genome Biol.* 6 (2): 209.
7. Iwasaki H, Kawamoto A, Tjwa M, Horii M, Hayashi S, Oyamada A, Matsuoto T, Suehiro S, Carmeliet P, Asahara T. (2011). PlGF repairs myocardial ischemia through mechanisms of angiogenesis, cardioprotection and recruitment of myo-angiogenic competent marrow progenitors. *PLoS One.* 6: e24872.
8. Vrachnis N, Kalampokas E, Sifakis S, Vitoratos N, Kalampokas T, Botsis D, Iliodromiti Z. (2013). Placental growth factor (PlGF): a key to optimizing fetal growth. *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med.* 26: 995–1002.

Сведения об авторах:

Бутенко Людмила Петровна — врач акушер-гинеколог, аспирант отдела акушерских проблем экстрагенитальной патологии ГУ «ИПАГ НАМН Украины имени акад. Лукьяновой Е.М. НАМН Украины». Адрес: г. Киев, ул. П. Майбороды, 8.

Килихевич Светлана Михайловна — к.мед.н., ст.н.с. лаборатории патоморфологии ГУ «ИПАГ НАМН Украины имени акад. Лукьяновой Е.М. НАМН Украины». Адрес: г. Киев, ул. П. Майбороды, 8; тел (044) 483-16-12.

Давыдова Юлия Владимировна — д.мед.н., магистр государственного управления, зав. акушерским отделением экстрагенитальной патологии беременных и постнатальной реабилитации ГУ «ИПАГ НАМН Украины имени акад. Лукьяновой Е.М. НАМН Украины». Адрес: г. Киев, ул. П. Майбороды, 8; тел. (044) 484-18-71.

Статья поступила в редакцию 03.06.2018 г.; принята в печать 17.09.2018 г.