

## НЕКОТОРЫЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ТЕРМИНАЛЬНЫХ И ПРОМЕЖУТОЧНЫХ ВОРСИН ПЛАЦЕНТ ПОСЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ

Мёд В.В., Старченко И.И.

Украинская медицинская стоматологическая академия, кафедра патологической анатомии с секционным курсом, г. Полтава, Украина, ORCID ID: 0000-0001-6227-7337, ORCID ID: 0000-0002-6666-1448, e-mail: starrdoc@i.ua

**Резюме.** Целью исследования было проведение сравнительного анализа структурной организации терминальных и промежуточных ворсин плацент после естественного оплодотворения и после экстракорпорального оплодотворения (ЭКО).

Установлено, что в плацентах после ЭКО имеет место утолщение слоя синцитиотрофобласта с увеличением его объемной плотности, увеличение объемной плотности ворсин с симпластическими почками. При этом паренхима плаценты имеет оптически более плотное строение за счет относительного уменьшения объема межворсинчатого пространства. Также наблюдается достоверное уменьшение диаметра кровеносных капилляров терминальных ворсин с увеличением их количества, увеличение численной плотности клеток Кашенко-Гофбауэра.

**Ключевые слова:** плацента, экстракорпоральное оплодотворение, ворсины хориона, терминальные ворсины.

**Вступление.** В настоящее время все большую популярность приобретают методы вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). Это связано не только с достижениями современной репродуктивной медицины и развитием материально-технической базы, но и является необходимостью в условиях все большего роста бесплодия в Украине. Так, в сравнении с 2012 годом, в 2016 уровень рождаемости снизился с 11,4 до 9,3 на 1000 населения [1]. Такие данные можно расценивать как прямые репродуктивные потери. Тем временем, за период 2006-2015 годов количество начатых лечебных циклов по методам ВРТ увеличилось в 3,5 раза, и составило 18871 циклов [2]. Одним из таких методов является экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО). В основе данного метода лежит стимуляция суперовуляции с последующей аспирацией фолликулов, оплодотворение *in vitro* и перенос сформировавшегося эмбриона в полость матки женщины [3]. Одним из важнейших факторов благоприятного течения беременности является нормальное развитие и функционирование плаценты и ее структурных компонентов, а именно – ворсин хориона, которые, в свою очередь, играют первостепенную роль в состоятельности системы «мать-плод» [4].

**Обоснование.** Ворсины хориона уже давно являются объектом исследований, связанных с плацентой, однако лишь незначительное количество исследований посвящено особенностям строения плаценты после оплодотворения методами ВРТ. Так, большинство работ связано с корреляцией оплодотворения *in vitro* и экстрагенитальной патологией [5;6], либо посвящено описанию конкретных клинических наблюдений [7;8]. В то же время, в научной литературе отсутствуют данные, касающиеся наличия отличительных особенностей в структурной организации отдельных структурных компонентов плацент после оплодотворения естественным путем, и оплодотворением методом ЭКО.

**Цель.** Целью исследования было выявление морфологических и морфометрических особенностей

терминальных и промежуточных ворсин плацент после оплодотворения методом ЭКО.

**Материалы и методы.** Было исследовано 20 плацент, которые разделили на 2 группы. Экспериментальную группу (ЭГ) составляли плаценты после оплодотворения методом ЭКО, контрольную группу (КГ) – плаценты после оплодотворения естественным путем. Возраст женщин составлял от 21 до 32 лет, во всех случаях экстрагенитальной патологии выявлено не было.

Кусочки плаценты для микроскопического исследования, размером 1x1x1 см, брались через всю её толщину из центральной, парацентральной и краевых зон, фиксировались в 10% растворе формалина. После фиксации, обезвоживания в спиртовой батарее восходящей концентрации материал заливали в парафиновые блоки. Полученные на микротоме гистологические срезы толщиной 7мкм окрашивали гематоксилин-эозином.

Для визуализации и получения морфометрической характеристики исследуемых структур плаценты, использовался микроскоп Olympus BX-41 с цифровой фотокамерой и набором лицензионных программ для морфометрических исследований. На микропрепаратах определяли следующие показатели:

1. Диаметр и площадь капилляров терминальных и промежуточных ворсин.
2. Диаметр и площадь терминальных и промежуточных ворсин.
3. Толщина синцитиотрофобласта терминальных ворсин (СТВ).
4. Объемная плотность ( $V_{vi}$ ) капилляров, синцитиотрофобласта, соединительнотканной стромы терминальных и промежуточных ворсин.
5. Объемная плотность  $V_{vi}$  терминальных ворсин, имеющих симпластические почки (СП).
6. Среднее количество капилляров в синцитиокапиллярных мембран (СКМ) в ворсинах, с расчетом индекса капилляризации.
7. Относительный объем основных компонентов плаценты: створовых, промежуточных, терминальных ворсин, межворсинчатого пространства.
8. Среднее количество и численная плотность ( $N_{ка}$ ) клеток Кашенко-Гофбауэра (ККГ) на 1 мкм<sup>2</sup>.

Для определения объемной и численной плотности использовали тест систему из 100 точек, площадью 1,16x105 мкм<sup>2</sup>. Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы Microsoft Excel. Для оценки различий данных, которые поддаются закону нормального распределения и данных, которые распределены не нормально (соответственно критерию согласия Пирсона), использовали t-критерий Стьюдента и U-критерий Манна-Уитни соответственно.

**Результаты исследования.** Исходя из полученных данных, выявлены некоторые различия в плацентах двух исследуемых групп. Так, по сравнению с контрольной группой, в экспериментальной были увеличены показатели среднего диаметра и площади собственно терминальных ворсин, уменьшение диаметра и площади их гемокапилляров (таб.1).

Таблица 1

**Сравнительная характеристика основных морфометрических параметров терминальных ворсин плацент экспериментальной и контрольной групп**

Показатель	Контрольная группа*	Экспериментальная группа (после ЭКО)*
Средняя S терминальных ворсин**	1690±87,6 мкм <sup>2</sup>	2001,91±84,07 мкм <sup>2</sup>
Средняя S промежуточных ворсин	6648±397,44 мкм <sup>2</sup>	6939±427,8 мкм <sup>2</sup>
Средний d терминальных ворсин**	45,1±1,2 мкм	49,53±1 мкм
Средняя S гемокapилляров**	130,76±3,97 мкм <sup>2</sup>	96,58±1,92 мкм <sup>2</sup>
Средний d гемокapилляров**	12,1±0,17 мкм	10,33±0,1 мкм
Толщина СТФ терминальных ворсин**	3,5±0,16 мкм	4,07±0,08 мкм

\*Данные представлены в формате M ± m

\*\*Различия статистически значимы (p<0,05)

Ожидаемо, индекс капилляризации в экспериментальной группе оказался ниже (0,197 в сравнении с 0,256 в КГ), однако следует отметить, что среднее количество капилляров в ворсинах той же группы превосходит аналогичный показатель в группе контроля (4,1±0,2 в группе исследования, против 3,32±0,22 в КГ).

При морфометрическом исследовании объемной плотности компонентов терминальных ворсин, Vvi синцитиотрофобласта в терминальных ворсинах экспериментальной группы оказалась выше, однако Vvi капилляров и соединительной ткани, напротив – меньше, в сравнении с контрольной группой (Таб.2), что сходно с ранее полученными нами результатами при исследовании терминальных ворсин [9].

Таблица 2

**Сравнительная характеристика объемной плотности (Vvi) структурных компонентов терминальных ворсин плацент экспериментальной и контрольной групп**

Компоненты ворсин	Контрольная группа	Экспериментальная группа
Капилляры	0,22	0,18
СТФ	0,32	0,4
Соединительная ткань	0,46	0,42

Достоверных различий в объемной плотности СТФ промежуточных ворсин обнаружено не было, однако наблюдалось некоторое уменьшение Vvi капилляров и увеличение Vvi соединительной ткани (Таб. 3).

Таблица 3

**Сравнительная характеристика объемной плотности (Vvi) структурных компонентов промежуточных ворсин**

Компоненты ворсин	Контрольная группа	Экспериментальная группа
Капилляры	0,21	0,16
СТФ	0,3	0,28
Соединительная ткань	0,49	0,56

Так же, наблюдалось увеличение объемной плотности терминальных ворсин с симпластическими почками (СП) в поле зрения: 32,6% в группе исследования, против 17,71% в контрольной группе (при увеличении x100) (Рис. 1).

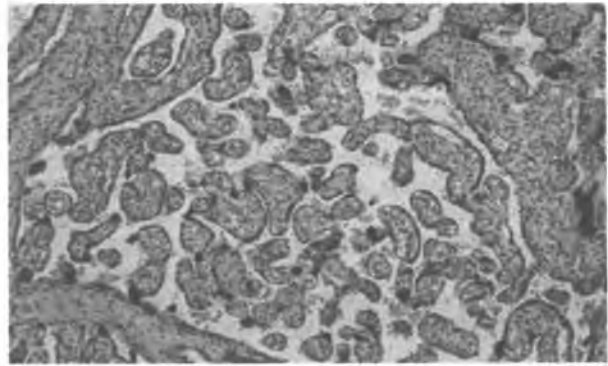


Рис. 1. Стрoение плаценты после экстракорпорального оплодотворения. Большое количество терминальных и промежуточных ворсин с явлениями ангиоматоза и симпластическими почками. Микропрепарат. Окраска гематоксилином и эозином. Об.10<sup>x</sup>, ок 10<sup>x</sup>

Численная плотность (Nai) клеток Кашенко-Гофбауэра в группе исследования оказалась на 37% больше (0,012 ± 0,0013 / мкм<sup>2</sup> в группе ЭКО против 0,0076 ± 0,0016 / мкм<sup>2</sup> в группе контроля). Статистически значимой разницы в численной плотности ККГ в промежуточных ворсинах выявлено не было.

При анализе относительного объема основных компонентов плаценты удельная плотность промежуточных ворсин в группе после ЭКО оказалась больше, чем тот же показатель в КГ, в то же время, межворсинчатое пространство наоборот занимало меньший объем (Рис. 2).



Рис. 2. Соотношение между относительными объемами основных компонентов плацент контрольной и экспериментальной (ЭКО) групп

**Обсуждение результатов.** Полученные данные свидетельствуют о включении компенсаторно-приспособительных механизмов в плацентах обеих групп исследования [10;7]. Наличие в разветвленных терминальных ворсинах плацент экспериментальной группы, множества мелких капилляров (имеет место достоверное уменьшение среднего диаметра капилляров при их увеличенном количестве), уменьшенный индекс капилляризации, увеличенный объем СТФ с множеством симпластических почечек в комплексе позволяют рассматривать данные изменения как выражение компенсаторных изменений [8;11].

Также в экспериментальной группе, в большей степени, чем в контрольной, встречаются ворсины с явлениями гиперемии и ангиоматоза, в сочетании с увеличенным количеством синцитиокапиллярных мембран (СКМ), что в целом обеспечивает активизацию метаболических процессов в хориальном синцитии. Данные изменения так же можно рассматривать, как одно из

проявлений компенсаторно-приспособительных реакций [8;12].

Не до конца понятными остаются причины увеличения численной плотности клеток Кашенко-Гофбауэра и связь капилляризации ворсин с различными факторами ангиогенеза, что требует более детального исследования иммуногистохимическими методами с использованием маркеров MMP9, CD34, а также CD68 и PCNA [13;14].

**Выводы:** 1. Терминальные ворсины плацент после ЭКО, в сравнении с ворсинками плацент контрольной группы, имеют достоверно больший средний диаметр и площадь, увеличенное количество капилляров на фоне уменьшения их среднего диаметра, большую численную плотность клеток Кашенко-Гофбауэра, увеличенную объемную плотность синцитиотрофобласта при уменьшенной объемной плотности соединительной ткани.

2. Существенных морфологических и морфометрических различий в промежуточных ворсинах плацент после ЭКО, и плацент контрольной группы выявлено не было, однако хориальное дерево плацент после ЭКО имеет достоверно оптически более плотное строение за счет увеличения объемной плотности промежуточных ворсин и уменьшения части межворсинчатого пространства.

3. Таким образом, изложенное выше свидетельствует о том, что структура терминальных и промежуточных ворсин, а также их пространственное расположение в плацентах после ЭКО, имеет ряд особенностей, схожих со структурными изменениями, характерными для проявления компенсаторно-приспособительных механизмов. Соответственно, данные изменения можно рассматривать в качестве системы адаптации, направленной на обеспечение наиболее физиологического развития беременности.

#### References:

1. Shchorichna dopovid pro stan zdorovia naseleння, sanitarno-epidemičnu situatsiiu ta rezultaty diialnosti systemy okhorony zdorovia Ukrainy. // Ukrainskyi instytut stratehichnykh doslidzhen MOZ Ukrainy. – 2016. – S. 87–96.
2. Iuzko O.M. Likuvannia bezpliddia z vykorystanniam dopomizhnykh reproduktyvnykh tekhnolohii v Ukraini / O.M. Yuzko, N. H. Rudenko. // ZDOROV'IA ZhNKY. – 2014. – №3. – S. 153–158.
3. Lesovska S.H. Stan vprovadzhenня dopomizhnykh reproduktyvnykh tekhnolohii v Ukraini / S.H. Lesovska. // O zdorove. – 2017.
4. Prokopyuk V.Yu. Vneplacentarnye trofoblasticheskie struktury: izuchenie, struktura, funktsii, svoystva, diagnosticheskoe i terapevticheskoe znachenie / V.Yu. Prokopyuk // Akusherstvo i ginekologiya. – 2016. – №2 – S. 49–54.
5. Pavlova T.V. Sovremennye aspekty izucheniya matochno-placentarnogo kompleksa pri odnoplodnoy beremennosti posle ekstrakorporalnogo oplodotvorennya / T.V. Pavlova, V.A. Petrukhin, S.A. Strukova. // Nauchnye vedomosti BelGU. – 2012. – №4. – S. 95–99
6. LiChanjuan C. Expression of factors involved in the regulation of angiogenesis in the full-term human placenta: Effects of in vitro fertilization / C. LiChanjuan, Y. Zhang, L. Tang. // Reproductive Biology. – 2016. – №2. – С. 104–112.
7. Tashmatova N. M. Osobennosti nekotorykh strukturnykh komponentov tkaney platsenty v usloviyakh vozdeystviya formoobrazuyushchikh faktorov / N.M. Tashmatova, N.T. Alekseeva, S.V. Klochkova. // Zhurnal anatomii i gistopatologii. – 2016. – S. 58–62.
8. Shchegolev A.I. Gistologicheskie izmeneniya platsenty i vaskulyarizatsiya ee vorsin pri ranney i pozdney preeklampsii

/ A. I. Shchegolev, V.M. Lyapin, U.N. Tumanova. // Arkhiv patologii. – 2016. – №1. – S. 13–17.

9. Med V.V. Osobennosti strukturnoy organizatsii terminalnykh otdelev villezhnogo dereva platsenty posle ekstrakorporalnogo oplodotvorennya / V.V. Med, I.I. Starchenko, N. O. Batura. // // Visnyk problem biolohii i medytsyny. – 2017. – S. 110–113.
10. Sazhina T.V. Morfologicheskie proyavleniya kompensatornykh reaktsiy platsenty u zhenshchin s ekstragenitalnoy patologiye / T.V. Sazhina, T.A. Ageeva. // Vestnik NGU. Seriya: Biologiya, klinicheskaya meditsina. – 2010. – №8. – S. 62–70.
11. Jerzy Stanek., Chorangiogenesis of Chorionic Villi: What Does It Really Mean?. Archives of Pathology & Laboratory Medicine: June 2016, Vol. 140, No. 6, pp. 588-593.
12. Henning F. Discordancy for Placental Massive Perivillous Fibrin Deposition and Fetal Growth in Dichorionic Twins after in Vitro Fertilization / F. Henning, T. Blocker. // Pediatric and Developmental Pathology. – 2015. – №1.
13. Huppertz B., Kertschansk S., Demir A. Y. et al. Immunohistochemistry of matrix metalloproteinases (MMP), their substrates, and their inhibitors (TIMP) during trophoblast invasion in the human placenta // Cell Tissue Res. 1998. Vol. 291. P. 1687–1702.
14. Nelson A.R., Fingleton B., Rothenberg M.L. et al. Matrix metalloproteinases: Biologic activity and clinical implications. J. Clin. Oncol. 2018: 1135–49.

УДК 618.177-089.888.11

## ДЕЯКІ МОРФОЛОГІЧНІ ТА МОРФОМЕТРИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ТЕРМІНАЛЬНИХ І ПРОМІЖНИХ ВОРСИН ПЛАЦЕНТ ПІСЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ ЕКСТРАКОРПОРАЛЬНОГО ЗАПЛІДНЕННЯ

Мед В.В., Старченко І.І.

Українська медична стоматологічна академія, кафедра патологічної анатомії з секційним курсом, м. Полтава, Україна, ORCID ID: 0000-0001-6227-7337, ORCID ID: 0000-0002-6666-1448, e-mail: starrdoc@i.ua

**Резюме.** Метою дослідження було проведення порівняльного аналізу структурної організації термінальних та проміжних ворсин плацент після природного запліднення і після екстракорпорального запліднення (ЕКЗ).

Встановлено, що в плацентах після ЕКЗ має місце потовщення шару синцитіотрофобласту зі збільшенням його об'ємної щільності та збільшення об'ємної щільності ворсин з симпластичними вузликами. При цьому паренхіма плаценти має оптично більш щільну будову за рахунок відносного зменшення обсягу міжворсинчатого простору. Також спостерігається достовірне зменшення діаметра кровоносних капілярів термінальних ворсин зі збільшенням їх кількості, а також збільшення чисельної щільності клітин Кашенко-Гофбауэра.

**Ключові слова:** плацента, екстракорпоральне запліднення, ворсини хоріона, термінальні ворсини.

UDC 618.177-089.888.11

## MORPHOLOGICAL AND MORPHOMETRIC FEATURES OF TERMINAL AND

## INTERMEDIATE PLACENTAL VILLI, AFTER IN VITRO FERTILIZATION PROCEDURE

V.V. Med, I.I. Starchenko

*Ukrainian Medical and Dental Academy, Department of Pathological Anatomy with Sectional Course, Poltava, Ukraine, ORCID ID: 0000-0001-6227-7337, ORCID ID: 0000-0002-6666-1448, e-mail: starrdoc@i.ua*

**Abstract.** The aim of the study was to identify the morphological and morphometric features of terminal and intermediate placental villi after fertilization by In vitro fertilization (IVF).

**Materials and methods.** Twenty placentas were studied, which were divided into 2 groups. The experimental group (EG) consisted of placentas after fertilization by the IVF method, the control group (CG) - placenta after fertilization in a natural way. Morphometric indicators, which characterize the features of the structure of the villous tree of both groups, were determined on the obtained micro preparations.

**Results of the study.** It was found that, in comparison with the control group, the average diameter and area of terminal villi were increased in the experimental group, and the diameter and area of their capillaries were decreased. Index of capillarization in the experimental group was lower (0.197 compared with 0.256 in KG), and the average number of capillaries in the villi of the same group exceeded the same value in the control group ( $4.1 \pm 0.2$  in the study group, versus  $3.32 \pm 0.22$  in KG).

In the morphometric study of the volume density of the terminal villi's components, the Vvi of syncytiotrophoblast in the terminal villi of the experimental group was higher; however, the Vvi of the capillaries and connective tissue, on the contrary, was less than in the control group.

In addition, an increase in volume density of terminal villi with syncytiotrophoblast buds (Sb) was observed -

32.6% in the study group, versus 17.71% in the control group.

The numerical density (Nai) of Kashchenko-Goughbauer cells in the study group was 37% larger ( $0.012 \pm 0.0013 \mu\text{m}^2$  in the IVF group vs  $0.0076 \pm 0.0016 \mu\text{m}^2$  in the control group). There was no statistically significant difference in the numerical density of the Kashchenko-Goughbauer cells in the intermediate villi.

When analyzing the relative volume of the main components of the placenta, the specific gravity of the intermediate villi in the group after IVF was greater than the same value in the KG, while the intervillous space, on the contrary, occupied a smaller volume.

**Conclusions:** Terminal villi of the placenta after IVF, in comparison with the villi in the control group, have a significantly larger average diameter and area, an increased number of capillaries, with decreased average diameter, large numerical density of Kashchenko-Goughbauer cells, and increased volume density of syncytiotrophoblast, with reduced volume density of connective tissue.

There were no significant morphological and morphometric differences in the intermediate placental villi after IVF, and the placentas of the control group was not found, however, the villous tree of placentas after IVF has a significantly visually more dense structure, due to an increase in the volume density of intermediate villi, and a decrease in part of the intervillous space.

Thus, the foregoing indicates, that the structure of terminal and intermediate villi, as well as their location in the placentas after IVF has a number of features, similar to the structural changes that are characteristic for the manifestation of compensatory-adaptive mechanisms. Respectively, these changes can be considered as an adaptation system, which is aimed at ensuring the most close to physiological fetal development.

**Keywords:** placenta, in vitro fertilization, chorionic villi, terminal villi.

Стаття надійшла до редакції 06 07.2018 р