

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЭНДОТЕЛИНА-1 И ФИБРОНЕКТИНА В ПЕЧЕНИ ПЛОДОВ И НОВОРОЖДЕННЫХ, РОЖДЕННЫХ ОТ МАТЕРЕЙ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ I ТИПА

Харьковский Национальный университет имени В. Н. Каразина (г. Харьков)

Работа выполнена в рамках НИР кафедры патологической анатомии Харьковского национального медицинского университета «Влияние патологии матери на патологическое состояние отдельных систем плода и новорожденного» и в соответствии с национальной программой Украины «Улучшение положения женщин, охрана материнства и детства» (номер госрегистрации № 0195 ИО 2062).

Вступление. Сахарный диабет беременных – заболевание, в патогенезе которого лежит абсолютная или относительная недостаточность инсулина в организме, который вызывает нарушение обмена веществ и патологические изменения в различных органах и системах. В последнее время прослеживается тенденция к увеличению числа беременных, больных сахарным диабетом [5]. Дети, родившиеся от женщин с сахарным диабетом, имеют отличительные особенности, так как в сроке внутриутробного развития находятся в особых условиях – гемостаз плода нарушен вследствие гипергликемии у матери, гиперинсулинемии и хронической гипоксии у плода [2]. Новорожденные отличаются по своему внешнему виду, адаптационным параметрам и особенностями метаболизма [6]. Характерной особенностью является большая масса тела при рождении, не отвечающая срокам внутриутробного развития. Развиваются изменения внутренних органов, гипертрофия островков поджелудочной железы, увеличение размеров сердца, уменьшение веса мозга и т. д. [3]. При этом, в функциональном отношении новорожденные отличаются незрелостью органов и систем, часто наблюдается незрелость гепатобилиарной системы, важнейшим органом которого является печень [4]. В отечественной и зарубежной научной литературе часто встречается мнение, что материнский СД вызывает эндотелиальную дисфункцию в организме плода, при которой нарушается продукция эндотелиальных факторов, таких как эндотелин-1 (ЭТ-1) и фибронектин (ФН) [1]. Фибронектин синтезируется преимущественно в печени и клетках ретикуло-эндотелиальной системы и, в качестве компонента межклеточного матрикса (его нерастворимой формы), способствует адгезии между клетками и основным веществом соединительной ткани [8]. ЭТ-1 является мощным вазоконстриктором, который секретируется эндотелиальными клетками и основными активаторами его

синтеза являются гипоксия, ишемия, острый стресс [7]. На сегодняшний день остается не изученным морфофункциональное состояние этих двух эндотелиальных факторов в печени плодов и новорожденных от матерей с СД.

Целью настоящего исследования является изучение иммуногистохимических особенностей эндотелина-1 и фибронектина в печени плодов и новорожденных, рожденных от матерей с СД различной степени тяжести.

Объект и методы исследования. Данное исследование основано на изучении печени плодов и новорожденных детей, рожденных от матерей, беременность которых была осложнена СД. В зависимости от степени тяжести материнского сахарного диабета весь исследуемый материал был разделен на следующие исследуемые группы: D₁ – новорожденные от матерей с СД легкой степени тяжести (19 случаев наблюдения), D₂ – новорожденные от матерей с СД средней степени тяжести ((23 случая наблюдения) причем, подгруппа D_{2А} – 10 случаев плодов и новорожденных с микросомией; подгруппа D_{2В} – 13 случаев плодов и новорожденных с макросомией), D₃ – новорожденные от матерей с СД тяжелой степени тяжести ((26 случаев наблюдения) причем, подгруппа D_{3А} – 12 случаев плодов и новорожденных с микросомией; подгруппа D_{3В} – 14 случаев плодов и новорожденных с макросомией). Группу контроля (К) составили новорожденные, выношенные в условиях физиологически протекавшей беременности и погибшие в результате острого нарушения маточно-плацентарного и пуповинного кровообращения (22 случая). У женщин с СД средней и тяжелой степеней тяжести рожденные плоды различались по массе, при этом отмечалась либо микросомия (средняя масса плода составила 2,480 г) либо макросомия плода (средняя масса плода составила 4,580 г). Поэтому для достоверного подсчета морфометрических показателей подсчеты велись для каждой весовой категории отдельно.

Постановка иммуногистохимической реакции осуществлялась по стандартному протоколу с использованием моноклональных антител к фибронектину и эндотелину-1 и системы визуализации. Использованы положительные и отрицательные контроли. Получены микрофотографии образцов ткани на увеличении 200 Ч с помощью микроскопа

и цифровой камеры. Фотосъемку проводили после настройки освещения по Келлеру с полным закрытием апертурной диафрагмы при поднятом конденсоре. Дальнейшее количественное исследование проводили с помощью компьютерного анализа изображения. Распространенность экспрессии исследуемых маркеров оценивалась по показателю относительной площади кадра (отношение площади занятой иммунопозитивными структурами к общей площади кадра, %), а интенсивность экспрессии – по показателю оптической плотности (A), который рассчитывался по формуле: $A = -\ln(I/I_0)$, где I – интенсивность светового потока, прошедшего через слой светопоглощающего вещества в области локализации иммунопозитивных структур; I_0 – интенсивность падающего светового потока (интенсивность светового потока, прошедшего через иммунопозитивные участки цитоплазмы). Оптическую плотность измеряли при разных длинах волн для выбора оптимальной длины волны для лучшей разницы иммунопозитивных и имунонегативных структур, а также иммунопозитивных структур различной интенсивности окраски. Статистическую обработку данных проводили с использованием методов описательной статистики. Для оценки межгрупповых различий применили t-критерий Стьюдента, критерий Манна-Уитни, ранговый дисперсионный анализ Краскела-Уоллиса и медианный тест. При сравнении частотных величин использовали χ^2 -критерий Пирсона и двусторонний точный критерий Фишера. Зависимость между количественными признаками оценивали с помощью рангового коэффициента корреляции Спирмена. Статистическую обработку выполняли с использованием программы Statistica for Windows 6.0.

Результаты исследований и их обсуждение.

Анализируя показатели оптической плотности иммуногистохимических реакций в печени плодов и новорожденных от матерей с СД (табл.) можно отметить тот факт, что оптическая плотность фибронектина достоверно повышается (по сравнению с контрольной группой) уже с легкой степени материнского СД и достигает максимума при тяжелой. Причем, разница в показателях также является достоверной и в группах D₂ и D₃ по сравнению с группой D₁. Учитывая тот факт, что СД всегда протекает на фоне той или иной степени фето-плацентарной недостаточности и гипоксии, мы приходим к выводу, что степень тяжести гипоксии, которая сопровождает материнский СД, напрямую связана с

интенсивностью склеротических изменений в ткани печени и жировой дистрофии гепатоцитов, и, соответственно, оптической плотностью фибронектина, который принимает участие в формировании соединительнотканного матрикса. Таким образом, чем тяжелее материнская гипоксия при СД, тем выше оптическая плотность фибронектина и процентное содержание соединительной ткани в печени плодов и новорожденных и, соответственно, ниже процентное содержание паренхиматозного компонента, что ухудшает постнатальную функциональность печени и приводит к той или иной степени гепатоцеллюлярной недостаточности.

Анализируя показатели оптической плотности иммуногистохимических реакций в печени плодов и новорожденных от матерей с СД (табл.) можно отметить тот факт, что экспрессия ЭТ-1 в сосудах печени плодов и новорожденных достоверно повышается начиная уже с легкой степени материнского СД. Причем, разница в показателях также является достоверной и в группах D₂ и D₃ по сравнению с группой D₁. Учитывая тот факт, что ЭТ-1 является вазоконстриктором и одним из активаторов его секреции и синтеза является гипоксия, повышение уровня экспрессии ЭТ-1 мы рассматриваем как компенсаторное проявление организма на гипоксию. Однако, в данном случае, имеет место развитие порочного круга по отношению к ткани печени плодов и новорожденных, поскольку постоянная вазоконстрикция приводит к уменьшению объема притекаемой оксигенированной крови в печень и усугубляет уровень фоновой гипоксии, уже имеющей место при материнском СД. Таким образом, высокий уровень экспрессии ЭТ-1 в сосудах печени плодов и новорожденных от матерей с СД следует рассматривать с одной стороны, как маркер уровня материнской гипоксии, так и как прогностически неблагоприятный признак, указывающий на степень повреждения тканей печени плодов и новорожденных и нарушения ее функциональности.

Таким образом, клиницистам следует учитывать степень тяжести материнского СД и развивающийся уровень повреждения тканей печени плодов и новорожденных и проводить соответствующую коррекционную терапию, чтобы в постнатальном периоде и в периоде роста и развития ребенка избежать адаптационных осложнений и повысить качество жизни таких пациентов.

Таблица

Показатели оптической плотности иммуногистохимических реакций в печени плодов и новорожденных от матерей с СД (усл. ед. опт. пл)

Показатель	Контроль	Группа D1	Группа D2	Группа D3
Оптическая плотность свечения ЭТ-1	1,123±0,03	1,178±0,04**	1,234±0,03**^	1,278±0,04**^
Оптическая плотность свечения фибронектина	2,002±0,02	2,230±0,05**	■2,312±0,02**^ ◆2,345±0,03**^	■2,398±0,05**^ ◆2,405±0,04**^

Примечание: * P<0,05 по сравнению с аналогичными показателями группы контроля К. ^ P<0,05 по сравнению с аналогичным показателем группы D₁; ** P<0,05 по сравнению с аналогичным показателем группы D₂; ■ – подгруппа D_{2А} и D_{3А}; ◆ – подгруппа D_{2В} и D_{3В}.

Выводы.

ЭТ-1 и фибронектин, как маркеры эндотелиальной дисфункции, указывают на наличие тяжести гипоксии плода при материнском СД.

Повышение уровня ЭТ-1 и фибронектина приводит к метаболическим нарушениям в гепатоцитах и развитию склеротических изменений в ткани печени плодов и новорожденных от матерей, начиная уже с легкой степени материнского СД.

Чем тяжелее материнская гипоксия при СД, тем выше оптическая плотность фибронектина в ткани печени плодов и новорожденных.

Чем тяжелее материнская гипоксия при СД, тем выше оптическая плотность ЭТ-1 в ткани печени плодов и новорожденных.

Перспективы дальнейших исследований. Перспективным является изучение иммуногистохимических особенностей эндотелина-1 и фибронектина в печени плодов и новорожденных, рожденных от матерей с преэклампсией различной степени тяжести.

Список литературы

1. Себко Т. В. Фибронектин и беременность / Т. В. Себко, В. А. Алиев // Вестн. АМН СССР. 1991. – № 2. – С. 46-49;
2. Солонец Н. И. Течение беременности, родов, состояние плода и новорожденного у беременных сахарным диабетом. // Материнство и детство. – 1992. – № 4. – С. 20-23;
3. Стрижаков А. Н., Давыдов А. И., Игнатко И. В., Белоцерковцева Л. Д. Физиология и патология плода: [монография]. – М.: Медицина, 2004. – 356 С.;
4. Федорова М. В. Сахарный диабет, беременность и диабетическая фетопатия / М. В. Федорова, В. И. Краснопольский, В. А. Петрухин. – М.: Медицина, 2001. – 288 С.;
5. Gestational Diabetes Mellitus. American Diabetes Association // Diabetes Care. – 2004. – Vol. 27. – P. S88-S90;
6. Sivan E. Impact of fetal reduction on the incidence of gestational diabetes / E. Sivan, E. MaC Homko // Obstet. Gynecol. – 2002. – № 99. – P. 91-94;
7. Willey K. E. Davenport A. P. Nitric oxide-medulation of the endothelin-1 signaling pathway in the human cardiovascular system // Brit. J. Pharmacology. – 2001. – Vol. 132. – P. 213-220;
8. Yong Mao, Jean E. Schwarzbauer. Fibronectin fibrillogenesis, a cell-mediated matrix assembly process // Matrix Biology. – 2005 – Vol. 24. – P. 389-399.

УДК 616.36-053.1/.31-092.18-02:618-02:618.3-06:616.379-008.64

ИМУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЭНДОТЕЛИНА-1 И ФИБРОНЕКТИНА В ПЕЧЕНИ ПЛОДОВ И НОВОРОЖДЕННЫХ, РОЖДЕННЫХ ОТ МАТЕРЕЙ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ I ТИПА

Проценко Е. С.

Резюме. Изучены иммуногистохимические особенности эндотелина-1 и фибронектина в печени плодов и новорожденных, рожденных от матерей с сахарным диабетом различной степени тяжести. ЭТ-1 и фибронектин, как маркеры эндотелиальной дисфункции, указывают на наличие тяжести гипоксии плода при материнском СД. Повышение уровня ЭТ-1 и фибронектина приводит к метаболическим нарушениям в гепатоцитах и развитию склеротических изменений в ткани печени плодов и новорожденных от матерей, начиная уже с легкой степени материнской СД.

Ключевые слова: печень, эндотелин-1, фибронектин, новорожденный, плод, сахарный диабет I типа.

УДК 616.36-053.1/.31-092.18-02:618-02:618.3-06:616.379-008.64

ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ЕНДОТЕЛІНУ-1 ТА ФІБРОНЕКТИНУ В ПЕЧІНЦІ ПЛОДІВ ТА НОВОНАРОДЖЕНИХ ВІД МАТЕРІВ З ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ I ТИПУ

Проценко О. С.

Резюме. Вивчено імуногістохімічні особливості ендотеліну-1 і фібронектину в печінці плодів і новонароджених від матерів з цукровим діабетом різного ступеня тяжкості. ЕТ-1 і фібронектин, як маркери ендотеліальної дисфункції, вказують на наявність тяжкості гіпоксії плоду при материнському ЦД. Підвищення рівня ЕТ-1 і фібронектину призводить до метаболічних порушень в гепатоцитах та розвитку склеротичних змін в тканині печінки плодів і новонароджених від матерів, починаючи вже з легкого ступеня материнського ЦД.

Ключові слова: печінка, ендотелін-1, фібронектин, новонароджений, плід, цукровий діабет I типу.

UDC 616.36-053.1/.31-092.18-02:618-02:618.3-06:616.379-008.64

Immunohistochemical Features Of Endothelin-1 And Fibronectin In The Liver Of Fetuses And Infants Born To Mothers With The Diabetes Mellitus I Type

Protsenko E. S.

Summary. Studied the immunohistochemical features of endothelin-1 and fibronectin in the liver of fetuses and infants born to mothers with diabetes mellitus of varying severity. ET-1 and fibronectin as markers of endothelial dysfunction, indicate the presence of the severity of fetal hypoxia in maternal diabetes. Increased ET-1 and fibronectin leads to metabolic disturbances in hepatocytes and the development of sclerotic changes in the liver of fetuses and newborns from their mothers, starting with mild maternal diabetes.

Key words: liver, endothelin-1, fibronectin, newborn, fetus, diabetes I type.

Стаття надійшла 12. 06. 2012 р.
Рецензент – проф. Скрипник І. М.