

Смирнова Т.Л.
Кандидат медицинских наук, доцент, Чувашский государственный университет
ИММУНОГИСТОХИМИЯ КЛЕТОК ПЛАЦЕНТЫ ПРИ ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫХ РОДАХ

Аннотация

Иммуногистохимическое исследование плаценты родильниц после преждевременных родов показало изменение экспрессии VEGF.

Ключевые слова: плацента, иммуногистохимия, сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), преждевременные роды.

Smirnova T.L.

PhD in medicine, associate professor, Chuvash State University

IMMUNOHISTOCHEMISTRY OF PLACENTA CELLS DURING PRETERM DELIVERY

Abstract

Immunohistochemical tests of puerperae placentae after preterm delivery indicated change in VEGF expression.

Keywords: placenta, immunohistochemistry, vascular endothelial growth factor (VEGF), preterm delivery

Плацента является мощным источником VEGF для активного ангиогенеза в ворсинах хориона. Большое количество VEGF поступает в материнскую кровь, омывающую ворсины хориона. В развитии преждевременных родов отводится роль нарушению микроциркуляции в плаценте.

Цель исследования: выявить и изучить экспрессию VEGF в плаценте родильниц с преждевременными и срочными самопроизвольными родами.

Материал и методы. Срезы плаценты обрабатывались по стандартному протоколу: сначала подавлялась пероксидазная активность путем инкубации срезов в 3% растворе H₂O₂ в течение 30 минут с последующей промывкой 0,1М фосфатным буфером. Для блока неспецифического связывания срезы инкубировались в течение 1 часа в 10% козьей сыворотке, после чего к ним были добавлены первые антитела к VEGF на 18 часов при температуре 4 °С. В качестве вторых антител были использованы антивидовые антииммуноглобулиновые биотилированные антитела [2]. Пероксидазную активность проявляли в инкубационной среде с диаминобензидином. В результате ферментативной реакции субстрат превращался в нерастворимый продукт коричневого цвета, совпадающий по локализации с местонахождением белка. Морфометрическое исследование участков плаценты проведено с применением компьютерного анализа микроскопических изображений. Препараты анализировались с помощью программного обеспечения для анализа изображений Sigma Scan Pro 5.0 (Systat).

Результаты исследований. При преждевременных родах отмечается незрелость структур плаценты. Терминальные ворсины имеют фестончатые очертания, строма резко отечная, большое количество клеток Кашенко-Гофбауэра. Хориальный эпителий двухслойный.

В плацентах родильниц с преждевременными родами наблюдается мощная реакция с VEGF. В реакцию вовлекаются эндотелий капилляров сосудов, синцитиокапиллярные мембраны. Иммунопозитивными являются мембраны в составе крупных и мелких ворсин. Выраженная реакция в мелких ворсинах. В амнионе наблюдается выраженная иммунопозитивная реакция. Макрофаги Кашенко-Гофбауэра имеют интенсивную темно-коричневую окраску. Интенсивная окраска VEGF в очагах ишемии. Площадь экспрессии VEGF составила 58,6±1,3 мкм².

В плацентах родильниц после срочных самопроизвольных родов реакция с VEGF менее выражена. Отмечаются кальцинаты, отек стромы. В децидуальных клетках VEGF дает плазматическое окрашивание. Слабо положительная экспрессия VEGF отмечена в эндотелии в среднем у 41% капилляров, в ряде активных симпластических почечек, участках трофобласта, единичных клетках Кашенко-Гофбауэра. Площадь экспрессии VEGF в плаценте при срочных родах 12,8±1,1 мкм² (p<0,001).

Обнаруженные нами изменения в плацентах родильниц совпадают с данными других исследователей, изучавшими факторы ангиогенеза (Радзинский В.Е., Милованов А.П. с соавт., 2004). Изучение содержания ангиогенного фактора выявило высокий уровень VEGF в плаценте у родильниц с преждевременными родами по сравнению с пациентками группы срочных самопроизвольных родов. При преждевременных родах, несмотря на накопление VEGF в микроструктурах плаценты, ухудшаются компенсаторные возможности плаценты на уровне терминальных ворсин, изменяется состояние эндотелия капилляров, что отрицательно влияет на обменные процессы через плацентарный барьер.

Литература

1. Экстраэмбриональные и околоплодные структуры при нормальной и осложненной беременности [под ред. В.Е. Радзинского, А.П. Милованова]. М.: МИА, 2004. – 393с.
2. Sternberger LA, Petrali JP. The unlabeled antibody enzyme method. Attempted use of peroxidase-conjugated antigen as the third layer in the technique // J Histochem Cytochem. – 1977. – Sep;25(9). – P. 36-42.

Хворостухина Н.Ф.¹, Салов И.А.², Столярова У.В.³

¹Доцент, кандидат медицинских наук, ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И.Разумовского Минздрава России, ²профессор, доктор медицинских наук, ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И.Разумовского Минздрава России, ³ассистент, кандидат медицинских наук, ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И.Разумовского Минздрава России.

ВЛИЯНИЕ СТРЕССОРНОГО ГОРМОНА ПРОЛАКТИНА НА ТЕЧЕНИЕ БЕРЕМЕННОСТИ ПОСЛЕ ХИРУРГИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ

Аннотация

В статье представлены результаты динамического исследования стрессорного гормона пролактина у беременных, перенесших оперативное вмешательство по поводу острого аппендицита. Установлено возрастание уровня пролактина в 1,5-1,8 раза на 5-7 сутки после хирургической травмы (P<0,05), с последующим снижением концентрации гормона на 10-14 сутки, что сопровождалось появлением клинических симптомов угрожающего прерывания беременности. Дополнительное использование в комплексе лечебных мероприятий дискретного плазмафереза на 3 и 5 сутки после операции способствует сохранению стабильных концентраций пролактина у беременных во все сроки послеоперационного периода и позволяет в 2 раза уменьшить частоту потерь беременности.

Ключевые слова: беременность, пролактин, аппендицит, хирургическая травма.

Khvorostukhina N.F.¹, Salov I.A.², Stolyarova U.V.³

¹Candidat of Medical Science, Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky Ministry of Health Russia, ²Doctor of Medical Science, Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky Ministry of Health Russia, ³Candidat of Medical Science, Saratov State Medical University n.a. V.I. Razumovsky Ministry of Health Russia

INFLUENCE OF STRESS HORMONE PROLACTIN ON DURING PREGNANCY AFTER TRAUMA SURGERY

Abstract

The results of the study of the dynamic stress-induced hormone prolactin in pregnant women undergoing surgery for acute appendicitis. Installations increase prolactin 1.5-1.8 times at 5-7 day after surgical injury (P < 0.05), followed by a decrease in hormone concentration

10-14 day accompanied by the appearance of clinical symptoms of threatening abortion. The additional use of a range of therapeutic interventions discrete plasmapheresis for 3 and 5 days after surgery contributes to the preservation of stable concentrations of prolactin in pregnant women during all periods of post-operative period and allows 2-fold decrease in the frequency of pregnancy loss.

Keywords: pregnancy, prolactin, appendicitis, surgical trauma.

Проблема невынашивания беременности продолжает оставаться актуальной на протяжении многих лет. Несмотря на развитие современной медицины, широкое использование вспомогательных репродуктивных технологий, частота потерь беременности и преждевременных родов неуклонно возрастает [1, 2, 3, 4]. В тоже время, в последние годы отмечается снижение индекса здоровья женского населения [2]. Чаще беременность протекает на фоне экстрагенитальных заболеваний, в том числе и хирургических, требующих экстренного оперативного вмешательства [11]. Самым распространенным хирургическим заболеванием органов брюшной полости является острый аппендицит. Его частота при беременности колеблется по различным источникам от 0,05-0,12% до 5,2% [5, 8, 10]. При этом частота потери беременности при данной патологии возрастает прямо пропорционально развитию осложненных форм аппендицита и варьирует от 2-17% до 90% [5, 8, 12].

Цель исследования: изучить динамику стрессорного гормона пролактина у беременных, перенесших хирургическую травму (на примере аппендэктомии) и оценить влияние изменений концентрации гормона на течение гестации.

Материал и методы исследования. Проведено комплексное обследование 78 беременных, перенесших хирургическую травму по поводу острого аппендицита при сроках гестации от 4 до 30 недель. Контрольную группу составили 37 женщин с физиологическим течением гестации. Концентрация пролактина в сыворотке крови беременных определялась методом иммуноферментного анализа с использованием коммерческих наборов фирмы «Био-Рад» до оперативного лечения, на 5-7 и 10-14 сутки после аппендэктомии. Учет результатов иммуноферментного определения гормона проводили на фотометре «Униплан» (фирма «Пикон», РФ). Пациентки группы сравнения (n=42) получали после операции стандартный объем лечебно-профилактических мероприятий, направленный на пролонгирование беременности. В основной группе (n=36) дополнительно был использован дискретный плазмаферез на 3 и 5 сутки после аппендэктомии (патент на изобретение № 2475277; бюлл. № 5 от 20.02.2013).

Результаты исследования и их обсуждение: Пациентки всех групп были сопоставимы по возрасту, срокам беременности, а так же наличию генитальной и соматической патологии. Срок гестации при поступлении беременных в стационар в большинстве наблюдений (40,5%-41,7%) находился в пределах от 4 до 12 недель, что согласуется с мнением многих авторов [1, 5, 12]. Динамическое исследование пролактина (табл. 1) у беременных с острым аппендицитом показало возрастание его сывороточной концентрации в сравнении с контрольной группой, причем более выраженное увеличение (в 1,5-1,8 раза) отмечено на 5-7 сутки после аппендэктомии (группа сравнения; P<0,05). По нашему мнению значительное возрастание пролактина является защитной реакцией организма женщины в ответ на болевой синдром и стресс, который обусловлен развитием хирургического заболевания и операционной травмой.

Таблица 1 Динамическое исследование пролактина у беременных с аппендицитом

Группы обследованных женщин	Уровень пролактина (нг/мл) в зависимости от срока беременности			
	4 – 12 недель	13 – 20 недель	21 – 25 недель	26 – 30 недель
Контрольная группа (n=37)	n=14 23,18±2,11	n=9 50,43±2,36	n=7 81,13±3,28	n=7 162,58±7,88
Беременные с аппендицитом (при поступлении) (n=78)	n=31 27,82±4,37	n=19 65,56±4,67	n=13 97,35±6,32	n=15 195,09±10,13
Основная группа (n=36) (5-7 сутки после аппендэктомии)	n=14 28,43±6,52**	n=9 53,47±5,17	n=6 82,24±4,21**	n=7 171,36±8,15**
Группа сравнения (n=42) (5-7 сутки после аппендэктомии)	n=17 41,72±6,21*	n=10 85,71±6,32	n=7 121,69±13,24	n=8 260,13±12,62*
Основная группа (n=36) (10-14 сутки после аппендэктомии)	n=14 22,86±3,41	n=9 49,88±3,74	n=6 81,43±5,18	n=7 164,11±9,27
Группа сравнения (n=42) (10-14 сутки после аппендэктомии)	n=17 17,87±1,49*	n=10 37,82±2,02	n=7 62,41±3,16*	n=8 125,23±6,19*

Примечания: * P < 0,05, различия показателей в сравнении с контрольной группой; ** P < 0,05, различия показателей основной группы и группы сравнения

Аналогичные результаты динамики стрессорных гормонов в ответ на хирургическое вмешательство представлены в работе Ю.С.Ханиной и соавт. [6]. С другой стороны известно, что высокие концентрации пролактина в сыворотке крови беременных оказывают блокирующее влияние на сократительную деятельность матки, способствуя прогрессированию беременности, несмотря на хирургическую травму, до 7-10 суток послеоперационного периода [3, 7]. Падение уровня гормона в 2 раза и появление гипертонуса миометрия по данным ультразвукового исследования нами отмечено уже на 10-14 сутки после аппендэктомии у пациенток группы сравнения. При этом в большинстве случаев (65,9%), появлялись клинические признаки угрозы прерывания беременности, что требовало дальнейшего лечения пациенток в условиях акушерского или гинекологического отделений. Проведенные ранее исследования убедительно доказывают весомое значение падения уровня пролактина в инициации сократительной деятельности матки [3, 7].

С целью коррекции гормональных нарушений и профилактики невынашивания беременности в основной группе дополнительно в комплексе лечебных мероприятий (спазмолитическая, антибактериальная и витаминотерапия) использовали дискретный плазмаферез на 3 и 5 сутки после хирургической травмы [9]. Сравнительный анализ динамического исследования пролактина в основной группе показал, что после использования плазмафереза у беременных содержание гормона в сыворотке крови на 5-7 сутки после аппендэктомии было достоверно ниже аналогичных показателей группы сравнения (табл.1). Кроме того, нами не отмечено резкого снижения пролактина на 10-14 сутки после хирургической травмы в основной группе. Сывороточная концентрация гормона у беременных основной группы достоверно не отличалась друг от друга во все сроки послеоперационного периода, при этом отсутствовала достоверная разница уровня пролактина в сравнении с показателем при физиологическом течении беременности аналогичных сроков гестации (P>0,05).

Дальнейшее наблюдение за беременными позволило выявить наибольший процент потерь беременности в группе сравнения: при сроках гестации до 12 недель (n=17) частота самопроизвольного выкидыша после операции составила 41,2% (n=7), неразвивающейся беременности 23,5% (n=4). Благополучный исход беременности после аппендэктомии в группе сравнения констатирован лишь у 54,8% женщин (n=26), при этом в 35,7% случаев беременность закончилась преждевременными родами при

сроках гестации от 30 до 36 недель. В основной группе проведение плазмафереза после хирургической травмы способствовало пролонгированию беременности во всех случаях.

Заключение. Изучение динамики стрессорного гормона пролактина у беременных, перенесших хирургическую травму, показало возрастание его сывороточной концентрации в 1,5-1,8 раза на 5-7 сутки после операции, с последующим резким снижением (в 2 раза) на 10-14 сутки, что сопровождалось клиническими симптомами угрожающего прерывания беременности. Дополнительное использование дискретного плазмафереза на 3 и 5 сутки после хирургического лечения острого аппендицита способствует сохранению стабильных концентраций пролактина у беременных во все сроки послеоперационного периода, что позволяет считать данный метод эффективным и безопасным способом профилактики потерь беременности после аппендэктомии.

Литература

1. Айламазян Э.К. Акушерство: национальное руководство / под ред. Э.К. Айламазяна, В.И. Кулакова, В.Е. Радзинского, Г.М. Сидельниковой. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – С. 943-952.
2. Радзинский В.Е. Акушерская агрессия. – М.: Изд-во журнала StatusPraesens, 2011. – 688с.
3. Салов И.А., Хворостухина Н.Ф., Рогожина И.Е. и др. Современный подход к ведению беременных с мертвым плодом // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2007. – № 4. – С. 17-21.
4. Сидельникова В.М. Привычная потеря беременности. – М. Триада-Х, 2005. – 304 с.
5. Стрижаков А.Н., Черноусов А.Ф., Рыбин М.В. и др. Беременность и острый аппендицит // Вестник хирургической гастроэнтерологии. – 2010. – №3. – С.4-16.
6. Ханина Ю.С., Лобанов С.Л., Коновалова О.Г. Оценка операционной травмы у пациентов в результате эндохирургического лечения желчнокаменной болезни // Сибирский медицинский журнал. – 2009. – № 6. – С. 157-159.
7. Хворостухина Н.Ф. Взаимосвязи пролактина и стероидных гормонов у женщин с внутриутробной гибелью плода, принципы их медикаментозной коррекции: Автореф. дис. канд. мед. наук. – Волгоград, 2003. – 25 с.
8. Хворостухина Н.Ф., Рогожина И.Е., Столярова У.В. Острый аппендицит и беременность: клиническое течение, диагностика и лечение // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2013. – № 1. – С. 102-112.
9. Хворостухина Н.Ф., Рогожина И.Е., Салов И.А., Блохина Е.О. Способ профилактики невынашивания беременности после аппендэктомии // Патент России на изобретение № 2475277. 2013. Бюл. №5.
10. Eryilmaz R., Sahin M., Bas G. et al. Laparoscopic Appendectomy s an acceptable alternantive for the treatment of perforated appendicitis // Dig. Surg. – 2002. – V. 19(1). – P. 40-44.
11. Pedrosa I., Levine D., Eyvazzadeh A.D. et al. MR imaging Evaluation of acute appendicitis in pregnancy // Radiology. – 2006. – Vol. 238 (3). – P. 891-899.
12. Wu J.M., Chen K.H., Lin H.F. et al. Laparoscopic appendectomy in pregnancy // J. Laparoendosc. Adv. Surg. Tech. A. – 2005. – Vol. 15 (5). – P. 447-450.

Шатских О. А.¹, Сергеева В. Е.²

¹Аспирант; ²доктор биологической наук, профессор; Чувашский государственный университет имени И. Н. Ульянова

ИССЛЕДОВАНИЕ КОРРЕЛЯЦИОННЫХ ОТНОШЕНИЙ МЕЖДУ БИОАМИНАМИ В СТРУКТУРАХ ТИМУСА ПРИ ВВЕДЕНИИ МЕЛАТОНИНА

Аннотация

Изучены корреляционные отношения по содержанию биогенных аминов в иммунокомпетентных структурах тимуса на фоне длительного введения мелатонина животным, содержащимся в различных световых условиях. Введение гормона приводит к трансформации корреляционных связей между структурами, содержащими биогенные амины, что связано с изменением синтеза и поглощения биоаминов.

Ключевые слова: мелатонин, тимус, биогенные амины, корреляционные связи.

Shatskikh O. A.¹, Sergeeva V. E.²

¹Postgraduate student; ² doctor of biological Sciences, professor; Chuvash State University named after I. N. Ulyanov

BIOAMINES CORRELATIONS IN THE STRUCTURES OF THYMUS ON THE INTRODUCTION OF MELATONIN

Abstract

Correlations of biogenic amines of immunocompetent structures in thymus have been studied on the long introduction of melatonin to the animals, kept under different light conditions. Introduction of the hormone leads to the transformation of correlations between the structures containing biogenic amines. This is connected with the changes in the synthesis and absorption of biogenic amines.

Keywords: melatonin, thymus, biogenic amines, correlations.

Мелатонин – это нейропептид, синтезирующийся главным образом эпифизом, и обладающий уникальным влиянием на организм человека и животных [8].

В организме мелатонин выполняет множество различных функций: влияет на гипоталамо-гипофизарные гормоны, участвует в синхронизации циркадных ритмов, оказывает иммуностимулирующее действие, обладает нейротрансмиттерными функциями, является сильным антиоксидантом, обладает снотворным эффектом, угнетающе влияет на развитие опухолей [2, 3, 4, 10], выявлена роль мелатонина в замедлении старения организма [5]. Ввиду множества разнообразных свойств и функций гормона, мелатонин находит широкое применение в медицине, и вводится в схемы терапии различной патологии [8, 10].

Известно, что экзогенный мелатонин способен увеличивать клеточность тимуса, усиливая пролиферацию клеток [9, 12]. Влияние мелатонина в разных условиях освещенности на распределение биоаминов в структурах тимуса, а также их взаимосвязь изучены недостаточно.

Материалы и методы. Цель исследования – изучение реакции биоаминосодержащих структур тимуса и их взаимосвязь при введении мелатонина животным, содержащимся в условиях различного освещения. Объектом гистологического исследования служили селезенки 40 половозрелых белых мышей-самцов 2-х месячного возраста. Животные были распределены на 7 групп: I – интактная ($n = 6$) – животные, которые содержались в обычных условиях вивария (естественное освещение 400 лк, влажность воздуха 90% кормление животных в период 8⁰⁰-9⁰⁰); II и V – контрольные ($n = 10$), животные получали обычный корм и в течение 2 и 4 недель соответственно находились в условиях искусственного затемнения; III и IV – экспериментальные ($n = 12$), животные получали препарат мелаксен (мелатонин, применяющийся для регуляции сна, как адаптоген при повышенных нагрузках, при быстрой смене часовых поясов [8]) ежедневно в дозе 0,03 мг в сутки в течение 2 недель и находились в условиях обычного освещения и искусственного затемнения соответственно; VI и VII – экспериментальные ($n = 12$), животные получали препарат мелаксен ежедневно в дозе 0,03 мг в сутки в течение 4 недель и находились в условиях обычного освещения и искусственного затемнения соответственно. Селезенка у животных забиралась на 14-е и 28-е сутки эксперимента во второй половине дня (14⁰⁰ - 15⁰⁰).

Криостатные срезы тимуса, толщиной 10 мкм обрабатывались следующими методами: