

ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ МАРКЕРИ ФЕТОПЛАЦЕНТАРНОЇ НЕДОСТАТНОСТІ (ФПН) ПРИ ЕКСТРАГЕНІТАЛЬНІЙ ПАТОЛОГІЇ У ВАГІТНИХ ЖІНОК

Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова (м. Вінниця)

Дана стаття є фрагментом НДР кафедри патологічної анатомії Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова «Морфогенез та патоморфоз захворювань шлунково-кишкового тракту, сечостатевої, нейроендокринної та імунної системи», № держ. реєстрації 0111U010551.

Вступ. Фетоплацентарна недостатність складає в структурі причин перинатальної смертності більше 30%. Багаторічні спостереження багатьох авторів за розвитком дітей, матерями з діагностовано ФПН, дозволили зробити висновок, що ця патологія обумовлює не тільки різке збільшення перинатальної смертності, а й значні зміни в організмі дитини, які на протязі перших років життя є причиною порушень в її фізичному і розумовому розвитку, а також збільшення соматичної та інфекційної патології [5].

Мета дослідження: на основі аналізу літературних джерел виявити найбільш значимі імуногістохімічні критерії фетоплацентарної недостатності при екстрагенітальних захворюваннях у вагітних жінок.

Об'єкт і методи дослідження. Імуногістохімічні дослідження, наведені в літературних джерелах, включали в себе вивчення розподілу колагенів I, II, і IV типів з використанням моноклональних антитіл; для характеристики фетоплацентарного комплексу при серцевій недостатності використовували імуногістохімічний метод TUNEL для визначення апоптозного індексу.

Для імуногістохімічних досліджень на визначення естрадіолових (ER) і прогестеронових рецепторів (PR), ядерного антигену клітинної проліферації (PCNA), раковомембріонального антигену (CEA) відразу після народження посліду вирізався шматочок плаценти 2x2 см по всій товщині і фіксувався в забуференому формаліні. Використовувались відповідно первинні моноклональні антитіла Clone 1D5, Clone 1 A6, антитіла до PCNA, кролячі антитіла до CEA CodeN1503. Протокол забарвлення (стандартний протокол DakoLSABr2 PeroxidaseKit): депарафінізація шматочків тканини на скло, блокування ендогенної пероксидази 3% розчином перекису водню, обробка предметного скла водою, блокування первинних моноклональних антитіл фірми DAKO (Данія) на одну годину.

Метод імуногістохімічних досліджень з використанням різноманітних маркерів, відповідні тим чи іншим патологічним станам являється одним із найсучасніших і достовірних. Вивчення імуногістохімічних критеріїв діагностики сприяє подальшій розробці методів діагностики та лікування ФПН.

За даними деяких авторів суттєву роль в розвитку плацентарної недостатності відіграють порушення формування сполучної тканини в ембріональному та постембріональному періодах [3]. Великого поширення набули гетерогенні і клінічно поліморфні патологічні стани. Частина їх була об'єднана в генні синдроми (Марфана, Елерса-Данло), а всі інші відносяться в групу недиференційованих дисплазій сполучної тканини (НДСТ). Оскільки іони магнію входять до складу основної речовини сполучної тканини, в умовах магнієвої недостатності порушується здатність фібробластів продукувати колаген, який є структурним елементом сполучної тканини.

Імуногістохімічні дослідження включали в себе вивчення розподілу колагенів I, III і IV типів з використанням моноклональних антитіл в п'яти ділянках плаценти, що підлягала попередній ультразвуковій діагностиці (УЗД).

Імуногістохімічний аналіз центральної, парацентральної і крайових ділянок плаценти показав суттєві відмінності в розподілі колагенів I, III та IV типів.

Основним структурним колагеном, що утворює каркас плаценти, є колаген I типу. При вираженій затримці росту і розвитку плода колаген I типу мало експресований в центральній частині плаценти. В парацентральної частини він експресований в самих ворсинах, але переважно в центральній частині. В периферичних частках котилейдонів він не експресується. В краєвих ділянках експресія колагену I типу також відбувається в центральній частині ворсин, але значно менше в порівнянні з парацентральною, що свідчить про нестабільність її структури у цій ділянці.

Розподіл колагену III типу в різних ділянках плаценти досить нерівномірний. В деяких ділянках його експресія була повністю відсутньою. При цьому ворсини окремих котилейдонів демонстрували чітку імуногістохімічну реакцію. Колаген III типу виявлявся в сполучно-тканинному каркасі навколо судин плаценти у всіх досліджуваних ділянках. Однак, в самій стінці капілярів колаген III типу не був виявлений. Найбільш вірогідна адаптативна мінливість морфологічної структури плаценти може бути пов'язана з диференціальною зональністю експресії колагену III типа. Враховуючи, що колаген III типа являється характерним для ембріональної шкіри плода і стінок кровоносних судин, його розподіл в плаценті носить незвичайний характер. Досить вірогідно, що саме його диференціальна експресія і індивідуальні генетичні особливості призводять до розвитку хронічної

плацентарної недостатності, наслідком якої є гостра гіпоксія плода в родах і асфіксія при народженні.

Виявлені також закономірності у відношенні колагену IV типу, який вважається найбільш стабільним і рівномірно розподіляється в ворсинах плаценти від центральної до краєвої ділянки. Експресуючись в стінках капілярів і судин, він традиційно вважається колагеном судинного русла. Однак, цей процес відбувається не тільки навколо судин, розташованих у ворсинах, а й в мезенхімальній стромі ворсин. Це підвищує еластичність ворсин, але при відсутності колагенів I та III типів зменшує механічну стабільність котилейдонів. Велика кількість цього колагену виявлено в крайових вогнищах інволюції плаценти. В випадках пошкодження ворсинчастого дерева колаген IV виявляється в фібрині і пошкоджених ворсинах.

Таким чином, колаген IV типу є основним компонентом пошкоджених ділянок плаценти, що дозволяє зберегти її еластичність. Отримані результати підтверджують, що у формуванні ФПН приймають участь фактори, які генетично детерміновані і існують в материнському організмі. Проведені імуногістохімічні дослідження свідчать про роль колагеноутворення в цьому процесі.

Імуногістохімічні дослідження плацент при серцево-судинній недостатності показали високу експресію колагену III типу в стінках судин, які розташовані по центру ворсин, а також в стромі ворсин середнього калібру і термінальних (3-4 бали, в контролі-2 бали) [4]. Спостерігався високий апоптозний індекс (164,08 ум. од. проти 80,2 ум. од. в контролі), утворення ДНК гранул в ядрах і апоптозних тільцях, що свідчило про наявність гіпоксичного апоптозу, характерного для фетоплацентарної недостатності.

За літературними даними при екстрахоріальних плацентитах, що зустрічаються при екстрагенітальній патології плаценти, змінюються процеси клітинної проліферації і апоптоза [6]. В синцитіотрофобласті і стромальних клітинах хоріальних ворсин, екстрахоріальних плацент і плаценти типової дископодібної форми при фізіологічній вагітності і родах (контроль) імуногістохімічним методом вивчений відсоток апоптотичних ядер (апоптотичний індекс), вміст і розподіл проапоптотичного цитозольно-мітохондріального протеїну Вах (Bcl-2 асоційований протеїн X) і антиапоптотичний мітохондріальний протеїн Bcl-2 (oncoprotein B-cell lymphoma-2).

Результати досліджень та їх обговорення. В результаті проведених досліджень були отримані наступні результати.

Встановлено, що у всіх без виключення плацентах спостерігалась загальна закономірність: посилений апоптоз клітин синцитіотрофобласта, а також стромальних клітин хоріальних ворсин на периферії органа (для екстрахоріальних плацент – в екстрахоріальній її частині) в порівнянні з центральними і парацентральною відділами. Про це свідчить ряд ознак: збільшення апоптотичного індексу (в середньому в 3. 4 рази – для синцитіотрофобласту і в 1. 8 рази – для стромальних клітин), поява ознак

активуючої гомоолігомеризації і транслокації проапоптотичного протеїну Вах при відсутності реакції антиапоптотичного протеїну Bcl-2 або навіть зниження його концентрації в синцитіотрофобласті.

При порівнянні показників апоптозу між екстрахоріальними і типовими плацентами були виявлені суттєві відмінності в інтенсивності апоптозу в периферичних відділах органу, однак між центральними і парацентральною відділами відмінностей не визначено. Відмінності полягають в тому, що в екстрахоріальних плацентах в їх периферичній (екстрахоріальній) частині апоптотичних індекс вищий, ніж в аналогічних по локалізації відділах типових плацент в середньому в 2,4 рази для синцитіотрофобласта і в 1,5 рази для стромальних клітин хоріальних ворсин. Крім того, в екстрахоріальних плацентах в порівнянні з типовими плацентами відмічається високий рівень активації (гомоолігомеризації і транслокації) проапоптотичного протеїну Вах і зменшення концентрації антиапоптотичного протеїну Bcl-2 [6].

Дослідження Драндров та ін. (2010) виявили найбільш значимі морфологічні критерії оцінки ступеня важкості плацентарної недостатності на основі імуногістохімічних досліджень маркерів функціонального стану нейроендокринної системи в плаценті за допомогою гліофібрилярного кислого протеїну (GFAP). Було проведено проспективне обстеження 500 пацієнток. В контрольну групу входили 150 здорових жінок з фізіологічним перебігом вагітності. Основну групу складала 350 вагітних з гестозом різного ступеню важкості. У всіх пацієнток був проведений порівняльний аналіз анамнестичних даних, результатів клінічного обстеження і лабораторних досліджень, наслідків вагітності і пологів, визначали в послідах наявність GFAP- позитивних структур за допомогою імуногістохімічних реакцій з моноклональними антитілами.

Результати дослідження показали, що у здорових жінок з фізіологічним перебігом вагітності і у жінок з плацентарною недостатністю на фоні екстрагенітальних захворювань були відмінності на рівні нейроспецифічних структур. У всіх вагітних з плацентарною недостатністю (основна група) був високий вміст досліджуваних білків в структурах плаценти в порівнянні з вагітними контрольної групи. Імуногістохімічно при плацентарній недостатності була виявлена однотипна позитивна реакція з GFAP –антигеном. Клітини трофобласту були добре пофарбовані. Найбільш інтенсивна реакція з протеїном GFAP спостерігалася зі сторони децидуальних клітин ендометрію.

За результатами досліджень Давидова (1996) у жінок після комбінованого лікування раку щитовидної залози (РЩЗ) при імуногістохімічному дослідженні ER і PR визначено, що експресія ER виявляється помірного і вираженого ступеня (++ і +++) у цитоплазмі синцитіотрофобласту і цитотрофобласту. В ядерних структурах синцитіотрофобласту та цитотрофобласту виявляється експресія ER помірного і слабкого ступеня (+ і ++). У жодній з вищеописаних структур не виявлено експресію PR. Зниження

експресії прогестеронових рецепторів і підвищення експресії естрогенових рецепторів у ворсинах плаценти жінок, прооперованих на ЦЗ, особливо в жінок після комбінованого лікування РЦЗ, свідчить про довготривале існуюче зниження прогестеронового впливу, що пояснює наявність високої частоти загрози переривання вагітності та дозволяє обґрунтувати необхідність проведення тривалої замісної терапії прогестинами.

У жінок після лікування РЦЗ при імуногістохімічному дослідженні маркерів PCNA у ядерних структурах синцитіотрофобласту, цитотрофобласту, стромальних елементів та ендотелію судин виявлено виражену експресію PCNA у всіх випадках. Такий високий рівень PCNA може мати декілька причин у вагітних з онкологічною патологією, які отримали не тільки хірургічне, але й радіологічне лікування. Високий рівень експресії PCNA у плацентарних структурах може побічно свідчити про наявність значного рівня впливу шкідливих факторів протягом всієї вагітності і напруженості функціонування систем захисту клітини від ушкоджень її ДНК. Тобто має місце високий рівень порушень і високий рівень репаративних процесів у клітині. При дослідженні маркеру пухлинного росту CEA виявлено наявність його експресії в 25% випадків у цитоплазмі стромальних клітинних елементів, фібробластах, клітинах Кашенко-Гофбауера, у контролі експресія CEA не виявлена. Експресія CEA є вираженою з малих термінів вагітності в клітинах трофобласту і відсутня в кінці вагітності. Даний антиген має властивість зберегти напівалотипний плод від материнської імунної системи, тому вважається необхідним для успішного розвитку вагітності. Однак, цей антиген визначається лише в певних популяціях гігантських клітин трофобласту на дуже ранніх етапах гестаційного процесу. В людському організмі на етапі доношеної вагітності CEA при фізіологічній гестації не визначається. Експресія CEA, виявлена в плаценті при доношеній гестації, може бути пояснена попаданням даного антигену від матері до плода на етапі, коли плодове яйце безпосередньо використовує для свого розвитку продукти життєдіяльності материнського організму (гістіотрофічний етап), до

того як два цих організми розділяються плацентою та оболонками.

Висновки.

1. Таким чином, колаген IV типу є основним компонентом пошкоджених ділянок плаценти, що дозволяє зберегти її еластичність. Отримані результати підтверджують, що у формуванні ФПН приймають участь фактори, які генетично детерміновані і існують в материнському організмі. Проведені імуногістохімічні дослідження свідчать про роль колагеноутворення в цьому процесі.

2. Вивчення GFAP показало, що даний маркер активації нейроендокринної системи в структурах плаценти жінок контрольної групи виявляється дуже рідко. У вагітних з плацентарною недостатністю від достовірно зростає в залежності від ступеню важкості ускладнень вагітності і виявляється в структурах трофобласту і децидуальних клітинах.

3. Процеси апоптозу синцитіотрофобласту і стромальних клітин хоріальних ворсин в периферичних відділах плаценти відіграють суттєву роль у формуванні екстрахоріальних плацент, характерних для патології вагітності.

4. Результати імуногістохімічних досліджень свідчили про різке зниження рецепторів до прогестерону, зниження експресії до естрогенів у жінок після комбінованого лікування раку щитовидної залози. Була виявлена більша експресія канцерембріонального антигену в структурах плацентарного бар'єру, що є маркером раннього формування плацентарної недостатності і збільшення експресії проліферативно-нуклеарного антигену як маркера розвитку компенсаторних процесів при ФПН, обумовленій екстрагенітальними захворюваннями у вагітних жінок.

Перспективи подальших розробок. Таким чином, отримані результати дослідження можуть бути впроваджені в практику і потребують продовження, оскільки виявлення основних імуногістохімічних маркерів фетоплацентарної недостатності при екстрагенітальних захворюваннях у вагітних жінок дозволить розробити чіткі критерії діагностики, профілактики даного захворювання запобігти ускладненням під час вагітності, пологів та антенатальній патології плода.

Література

1. Давидова Ю. В. Функціональний стан плаценти і його діагностичне значення в затримці розвитку плода у вагітних регіона аварії на Чорнобильській АЕС: автореф. дис... на здобуття наукового ступеня канд. мед. наук: спец. 14.01.01 «Акушерство і гінекологія» / Давидова Ю. В.; АМН України, Інститут педіатрії, акушерства та гінекології. – К., 1996. – 22 с.
2. Драндров Г. Л. Патоморфологические особенности плацентарной недостаточности / Г. Л. Драндров, Т. Л. Смирнова / Казанский медицинский журнал. – 2010. – № 5. – С 34-37.
3. Краснопольский В. И. Плацентарная недостаточность и особенности индукции коллагена / В. И. Краснопольский, С. В. Савельев, С. В. Новикова, И. В. Барина // Мать и дитя: Мат. VIII Рос. форума. – М., 2006. – С. 129.
4. Лук'янова І. С. Серцева недостатність у вагітних, клініко-патологічні особливості, прогнозування ускладнень, профілактика і лікування: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра мед. наук: спец. 14. 01. 11 «Кардіологія»; 14.01.01 «Акушерство і гінекологія» / І. С. Лук'янова; АМН України. Ін-т кардіології ім. М. Д. Стражеска. – К., 2003. – 45 с.
5. Малевич Ю. К. Фетоплацентарна недостатність / Ю. К. Малевич, В. А. Шостак. – Мінськ: «Беларусь», 2007. – 112 с.
6. Тюленева Е. А. Имуногистохимическое исследование процесов апоптоза в экстрахориальных плацентах / Е. А. Тюленева, И. С. Давыденко // Дніпропетровськ: Наука і освіта, 2006. – Т. 13 [Медицина]. – С. 110 – 112.

УДК 618. 36:616. 523:572. 7

ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ МАРКЕРИ ФЕТОПЛАЦЕНТАРНОЇ НЕДОСТАТНОСТІ (ФПН) ПРИ ЕКСТРАГЕНІТАЛЬНІЙ ПАТОЛОГІЇ У ВАГІТНИХ ЖІНОК

Король Т. М.

Резюме. Фетоплацентарна недостатність є однією з основних причин патологій перинатального періоду. В літературних джерелах існує досить багато даних про морфологічні зміни плаценти при різноманітних захворюваннях у вагітних жінок. Однак, імуногістохімічний метод є одним з найсучасніших методів дослідження патологічних станів плаценти. Чітких критеріїв діагностики ФПН при екстрагенітальній патології у вагітних жінок й досі не розроблено. Було проведено аналіз літературних джерел та власні дослідження з метою виявлення найбільш значимих імуногістохімічних маркерів фетоплацентарної недостатності при деяких екстрагенітальних захворюваннях у вагітних жінок.

Результати дослідження показали, що у здорових жінок з фізіологічним перебігом вагітності і у жінок з плацентарною недостатністю на фоні екстрагенітальних захворювань були відмінності на рівні нейроспецифічних структур. Вивчення імуногістохімічних змін в плаценті є важливим фактором для подальших розробок в напрямку підвищення якості акушерської допомоги і профілактики ускладнень під час вагітності у післяродовому періоді у жінок з екстрагенітальними захворюваннями.

Ключові слова: фетоплацентарна недостатність, імуногістохімічні дослідження, дисплазія сполучної тканини, колаген, котилейдони, екстрагенітальні захворювання.

УДК 618. 36:616. 523:572. 7

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ФЕТОПЛАЦЕНТАРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ (ФПН) ПРИ ЭКСТРАГЕНИТАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН

Король Т. М.

Резюме. Фетоплацентарная недостаточность является одной из основных причин патологий перинатального периода. В литературных источниках существует достаточно много данных о морфологические изменения плаценты при различных заболеваниях у беременных женщин. Однако, иммуногистохимический метод является одним из самых современных методов исследования патологических состояний плаценты. Четких критериев диагностики ФПН при экстрагенитальной патологии у беременных женщин до сих пор не разработано. Был проведен анализ литературных источников и собственные исследования с целью выявления наиболее значимых иммуногистохимических маркеров фетоплацентарной недостаточности при некоторых экстрагенитальных заболеваниях у беременных женщин.

Результаты исследования показали, что у здоровых женщин с физиологическим течением беременности и у женщин с плацентарной недостаточностью на фоне экстрагенитальных заболеваний были различия в уровне нейроспецифических структур. Изучение иммуногистохимических изменений в плаценте является важным фактором для дальнейших разработок в направлении повышения качества акушерской помощи и профилактики осложнений во время беременности в послеродовом периоде у женщин с экстрагенитальной заболеваемостью.

Ключевые слова: фетоплацентарная недостаточность, иммуногистохимические исследования, дисплазия соединительной ткани, коллаген, котилейдоны, экстрагенитальные заболевания.

UDC 618. 36:616. 523:572. 7

Immunohistochemical Markers of Fetoplacental Insufficiency in Extragenital Pathology of Pregnant Women

Korol T. M.

Summary. Fetoplacental insufficiency is a basic cause of perinatal pathology. In literature there are many data on the morphological changes of the placenta in a variety of diseases in pregnant women. However, immunohistochemical method is one of the most modern methods of pathological conditions of the placenta. There are no clear diagnostic criteria FPI with extragenital pathology in pregnant women has not yet been developed. It was an analysis of the literature and their own research to identify the most important immunohistochemical markers fetoplacental insufficiency in some extragenital diseases in pregnant women.

The results showed that in healthy women with physiological pregnancy and in women with placental insufficiency on the background of extragenital diseases were differences at neurospecific structures. Immunohistochemical study of changes in the placenta is an important factor for further development towards improving the quality of obstetric care and prevention of complications during pregnancy in the postpartum period in women with extragenital diseases.

Key words: fetoplacental insufficiency, immunohistochemical studies dysplasia of connective tissue, collagen, extragenital diseases.

Стаття надійшла 4. 02. 2013 р.

Рецензент – проф. Костюк Г. Я.