

УДК 618.2.36:578.825.11:612.015.39

Н.Н.Дорофиев, Н.А.Ишутина

ВЫЯВЛЕНИЕ ИОНИЗИРОВАННОГО КАЛЬЦИЯ В ВОРСИНЧАТОМ ХОРИОНЕ У БЕРЕМЕННЫХ С ГЕРПЕС-ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ*ГУ Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания СО РАМН***РЕЗЮМЕ**

На структурно-гистохимическом уровне изучено накопление и распределение ионизированного кальция в хориальной ткани плаценты при обострении герпес-вирусной инфекции на разных сроках гестации. Показано увеличение внутриклеточной концентрации этого иона в синцитио- и цитотрофобластических слоях, накопление в кариоплазме клеток Ланганса и диффузное распространение в строме ворсинчатого хориона. Следствием этого, является нарушение кальциевого обмена в симпласте хориона, приводящее к глубоким изменениям метаболических процессов, которые являются причиной тяжелых поражений фетоплацентарного барьера при герпетической инфекции.

SUMMARY

N.N.Dorofienko, N.A.Ishutina

IONIZED CALCIUM DETECTION IN VILLOUS CHORION IN PREGNANT PATIENTS WITH HERPES-VIRUS INFECTION

Structural and histo chemical studies have been carried out to investigate accumulation and distribution of ionized calcium at placental chorion tissue in patients with acute herpes-virus infection during different gestation periods. The study showed increase in this ion concentration in syncytio – and cyto-trophoblastic layers, its accumulation in karyoplasm of Langerhans islets and its diffuse distribution in villous chorion stroma. This results in calcium metabolism disturbance in chorion symplast, leading to significant alterations in metabolic processes, which account for severe lesions of phetoplacental barrier in herpes infection.

Герпесная инфекция является, несомненно, одной из наиболее распространенных болезней человека. В последние годы доказана её роль в возникновении патологии плода и новорожденных. При беременности в связи с подавлением клеточного иммунитета возможно возникновение диссеминации вируса с поражением последа и инфицированием плода [2, 4, 7].

Известно, что плацента является основным барьером на пути внутриутробного инфицирования плода, а её поражение приводит к фетальным осложнениям [13]. Строение плаценты позволяет вирусам размножаться в ней в больших количествах. Изменения в последе зависят как от патогенности возбудителя и

способа его размножения, состояния макроорганизма, длительности инфекционного процесса и путей инфицирования, так и от времени возникновения рецидивов и их количества [3].

При длительном или повторном воздействии повреждающих факторов (например, при хронической, часто рецидивирующей инфекции) чрезмерная активация деятельности плаценты и напряжение всех компенсаторных механизмов сменяется угнетением, дезорганизацией основных функций с развитием необратимых процессов в плацентарной ткани [10].

Герпетическое поражение плаценты сопровождается воспалительными изменениями в ворсинчатом хорионе, в плаценте наблюдаются плазматические клетки в строме ворсин, выраженная лимфоцитарно-плазматическая инфильтрация базальной пластинки, хориона (клетки Гоффбауэра-Кашенко), отмечаются явления васкулита. Неспецифическими проявлениями является образование тромбов, отложение фибрина, кальция и железа в строме ворсин [7].

Особое внимание на наш взгляд заслуживает изучение роли ионов кальция в регуляции внутриклеточного метаболизма в плаценте беременных, как в норме, так и при патологии. Это обстоятельство не является случайным, поскольку роль внутриклеточного кальция исключительно важна для нормальной жизнедеятельности практически всех клеточных элементов [1]. Так как кратковременное повышение внутриклеточной концентрации кальция является одним из важнейших пусковых механизмов, приводящих к делению клеток, секреции гормонов и медиаторов, к запуску других активных процессов жизнедеятельности клеток.

Увеличение потока кальция в клетках различных органов часто является необходимым этапом функциональной активности клеточных элементов. В связи с тем, что ионы кальция являются универсальными внутриклеточными регуляторами, то длительное повышение входа кальция в клетки может нарушать его регуляторную функцию и стать ведущим звеном многих патологических процессов [8, 12].

Анализ современной литературы свидетельствует о том, что вопрос аккумуляции ионов кальция в плаценте беременных, а именно симпласте хориона, при обострении герпес-вирусной инфекции практически не изучен. Вместе с тем, механизм транспорта ионов кальция внутрь клетки, а также значение кальция в протекании тех или иных биохимических реакций в ворсинчатом хорионе в норме и, особенно при влиянии герпетической инфекции остаются до конца не выясненными.

Целью данного исследования явилось гистохимическое изучение внутриклеточной локализации и содержания ионизированного кальция в плаценте беременных с герпес-вирусной инфекцией.

Материалы и методы

Проведено гистохимическое исследование 20 плацент, взятых на сроке 5-10 недель (абортный материал) и 38-40 недель от беременных, перенесших обострение герпес-вирусной инфекции до и во время беременности. В группу контроля вошли 14 плацент от практически здоровых беременных на тех же сроках гестации.

Ионы кальция выявляли по методу Карассо и Фаворда в модификации Комника [5]. Материал фиксировали в 2,5% глютаральдегиде на 0,05 М кокадилатном буфере при pH 7,4 в течение часа. Далее отмывали соответствующим буфером. Последующую фиксацию проводили в 2% растворе четырех окиси осмия в течение 60 минут. После дегидратации в серии спиртов и ацетона образцы заливали в смесь смол арамдит и эпон-812. Полутонкие срезы толщиной 1 мкм готовили на ультромикротоме «LKB – 8800» (Швеция) и окрашивали, метиленовым синим. Конечный осадок гистохимической реакции интенсивно черного цвета (диффузный или гранулярный) контрастно маркирует места интрацеллюлярной локализации ионизированного кальция. Оценка данной реакции полуколичественная. Уровень анализа – светоптическая микроскопия.

Результаты исследования и их обсуждение

Анализ гистохимических препаратов на светоптическом уровне свидетельствует о том, что происходит накопление ионизированного кальция в ворсинчатом хорионе на фоне влияния агента герпес-вирусной инфекции.

Осадок черного цвета (гранулы конечного продукта реакции оксолат кальция) отчетливо выявлялись в цитоплазме и ядрах клеток эпителия и строме ворсинчатого хориона. Высокое содержание ионов

кальция наблюдалось на ранних сроках беременности (5-10 недель) в синцитио- и цитотрофобластических слоях эпителия ворсин. Гранулы располагались в большей мере диффузно, а также отдельными участками-скоплениями. Отмечалось накопление продукта гистохимической реакции в большом количестве в клетках Ланхганса (рис. 1, 2).

На некоторых участках хориальных ворсин, где наблюдалось отсутствие эпителия, отмечалось скопление продукта гистохимической реакции на базальной мембране и под ней (рис. 3).

Отдельные участки эпителия, находившиеся в межворсинчатом пространстве, были сплошь заполнены гранулами ионов кальция. В разволокненной строме ворсин ионы кальция выявлялись хаотично, редко отдельными участками, расположенными около кровеносных сосудов, также в цитоплазме клеточных элементов наподобие фибробластов и мезенхимальных клеток (рис. 4, 5).

В материале, взятом при родах, в отличие от ранних сроков беременности, отмечалось высокое содержание двухвалентного иона в цитоплазме синцитиотрофобласта и в единичных клетках Ланхганса (рис. 6, 7). В склерозированной строме ворсин наблюдалось значительное содержание ионизированного кальция. Осадок реакции располагался диффузно или скоплениями гранул под базальной мембраной и вокруг утолщенных кровеносных сосудов.

Полученные результаты гистохимического исследования свидетельствуют о накоплении ионов кальция во всех тканевых элементах ворсинчатого хориона плаценты при действии вируса герпеса. Особенно демонстративен в этом отношении симпластический слой ворсин, являющийся основным фетоплацентарным барьером на пути внутриутробного инфицирования плода.

Накопление ионов кальция в симпласте хориона при герпесе, можно объяснить нарушением физико-химического состояния липидного компонента клеточной мембраны и изменением в ней структуры и конформации белков, включая белки-рецепторы,

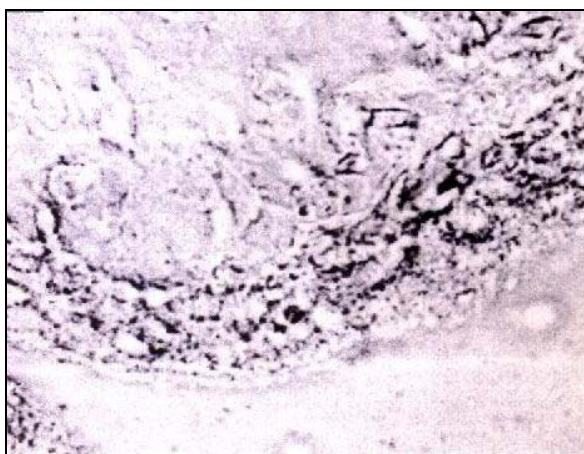


Рис. 1. Ворсинчатый хорион. 10 недель беременности. Обострение герпес-вирусной инфекции. В симпласте хориона и клетках Ланхганса накопление ионов кальция. Реакция на кальций по методу Карассо и Фаворда в модификации Комника. Увеличение 20 × 40.

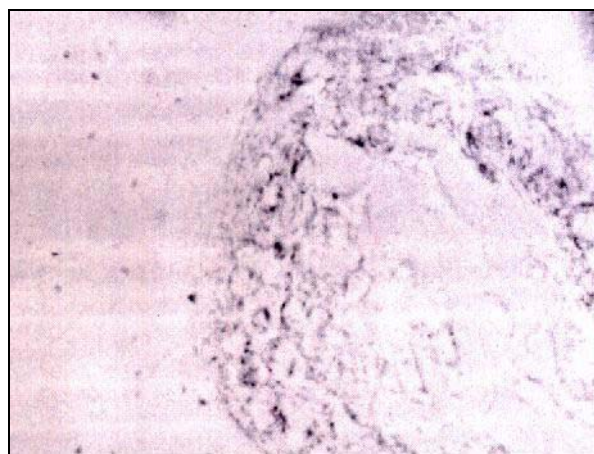


Рис. 2. Ворсинчатый хорион. Контроль. В симпласте хориона и клетках Ланхганса единичные гранулы ионов кальция. Реакция на кальций по методу Карассо и Фаворда в модификации Комника. Увеличение 20 × 40.

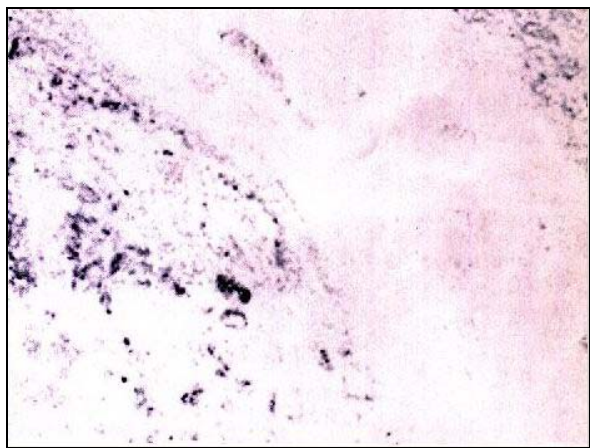


Рис. 3. Ворсинчатый хорион. 10 недель беременности. Обострение герпес-вирусной инфекции до беременности. Накопление ионов кальция под базальной мембраной. Реакция на кальций по методу Кароссо и Фаворда в модификации Комника. Увеличение 10×40 .

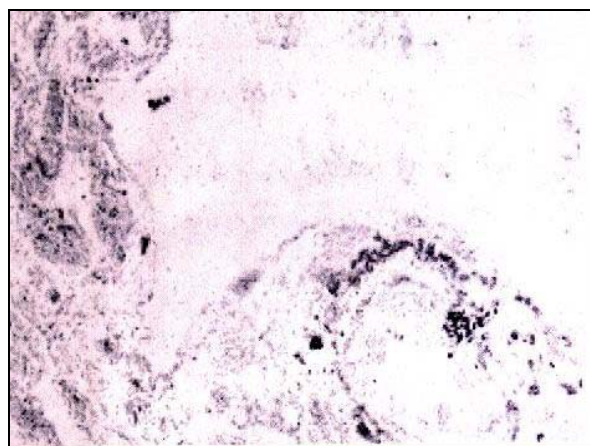


Рис. 4. Ворсинчатый хорион. 10 недель беременности. Обострение герпес-вирусной инфекции. Накопление кальция вокруг кровеносных сосудов. Реакция на кальций по методу Кароссо и Фаворда в модификации Комника. Увеличение 10×40 .

ферментные белки, а также белки, участвующие в



Рис. 5. Ворсинчатый хорион. 10 недель беременности. Контроль. В цитоплазме симпласта единичные гранулы ионов кальция. Реакция на кальций по методу Кароссо и Фаворда в модификации Комника. Увеличение 20×40 .

торая выводит из сферы реакции цАМФ, превращая

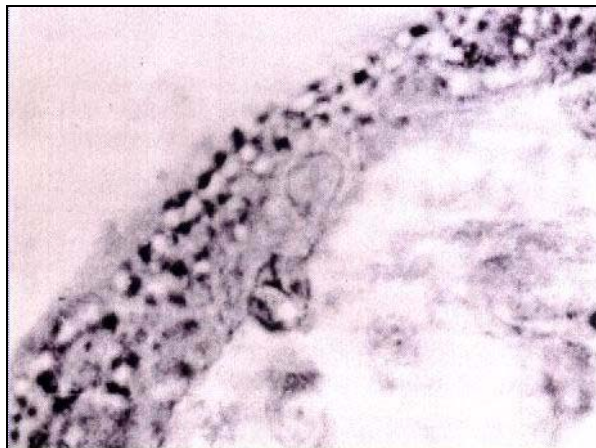


Рис. 6. Зрелая плацента. Обострение герпес-вирусной инфекции в III триместре. В симпласте хориона высокая реакция на ионы кальция. Реакция на кальций по методу Кароссо и Фаворда в модификации Комника. Увеличение 10×40 .

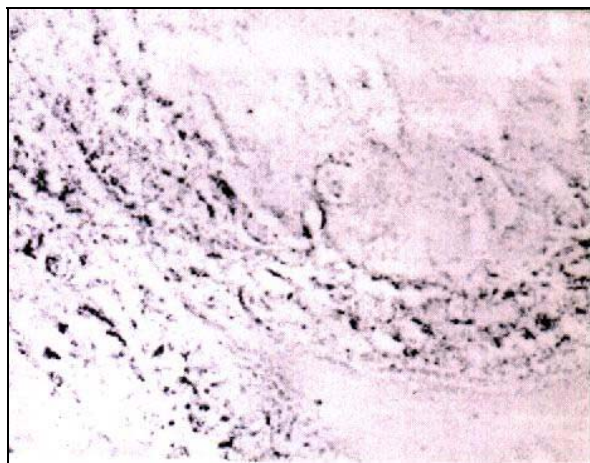


Рис. 7. Зрелая плацента. Контроль. Низкоактивная гистохимическая реакция. Реакция на кальций по методу Кароссо и Фаворда в модификации Комника. Увеличение 10×40 .

Под влиянием высокой концентрации $[Ca^{2+}]_c$ в симпласте хориона может происходить неконтролируемый запуск каскада Ca^{2+} - зависимых реакций. В первую очередь – это активация протеолитических ферментов, липаз, эндонуклеаз. Активация фосфолипазы A_2 сопровождается отщеплением арахидоновой кислоты и включением ферментов каскада арахидоновой кислоты. Активация цикло- и липооксигеназного путей в ворсинчатом хорионе плаценты, сопровождается накоплением лейкотриенов, тромбоксанов, простогландинов, которые могут способствовать спазму сосудов и усугублять воспалительный процесс [6, 11].

Таким образом, при активации персистирующей герпес-вирусной инфекции в ворсинчатом хорионе плаценты наблюдалось накопление ионов кальция, что может приводить к глубоким изменениям в метаболизме белков, жиров, углеводов, водно-электролитном обмене, которые могут являться причиной тяжелых поражений плацентарной ткани и развитию фетоплацентарной недостаточности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Рецепторы и внутриклеточный кальций [Текст]/П.В.Авдонин.-М.: Наука, 1994.-288 с.
2. Особенности течения беременности и родов у больных с герпес-вирусными инфекциями [Текст]/Е.И.Барановская [и др.]/Акуш. и гин.-2004.-№5.-С.49-50.
3. Морфология последа при генитальной герпетической инфекции [Текст]/Н.И.Бубнова, З.С.Зайдиева, В.Л.Тютюнник//Акуш. и гин.-2000.-№6.-С.24 – 29.
4. Диагностика и лечение хронической фетоплацентарной недостаточности [Текст]/В.И.Бычков, Е.Е.Образцова, С.В.Шамарин//Акуш. и гин.-1999.-№6.-С.3-6.
5. Электронная гистохимия [Текст]/Г.Гайер.-М.: Мир, 1974.-С.340-341.
6. Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состояниях окислительного стресса [Текст]/Е.Е.Дубинина// Вопр. мед. химии.-2001.-Т.47, №6.-С.561-581.
7. Перинатальные аспекты герпетической инфекции [Текст]/З.С.Зайдиева, В.Л.Тютюнник, Н.В.Орджоникидзе//Акуш. и гин.-1999.-№1.-С.4-17.
8. Гистохимическая локализация ионизированного кальция в афферентном нервном аппарате слизистой оболочки бронхов больных бронхиальной астмой [Текст]/В.И.Кириченко, М.Т.Луценко//Новые научные технологии в Дальневосточном регионе: материалы III Дальневосточной региональной конференции с всероссийским участием, 27 – 29 сент., 1999. -Благовещенск, 1999.-С.79-80.
9. Роль афферентного нервного аппарата воздухоносных путей в патогенезе бронхиальной астмы [Текст]/В.И.Кириченко//Бюл. физиол. и патол. дыхания.-2000.-Вып.7.-С.20-31.
10. Фетоплацентарная система при герпесной инфекции [Текст]/Луценко М.Т. [и др].-Благовещенск, 2003.-200 с.
11. Хроническая плацентарная недостаточность при бактериальной и/или вирусной инфекции [Текст]/Н.В.Орджоникидзе, В.Л.Тютюнник//Акуш. и гин.-1999.-№4.-С.46-50.
12. Dihydropyridine modulators of voltage – sensitive Ca^{2+} channels specifically regulate prolactin production by GH_4C_1 pituitary tumor cells [Text]/J.J.Enyart, S.S.Sheu, P.M.Hinkle//J. Biol. Chem.-1987.-Vol.262.- P.3154-3159.
13. An ultrastructural and ultrastructural study of the human placenta in maternal preeclampsia [Text]/C. J.P.Jones, H.Fox//Placenta.-1980.-Vol.1.-P.61-67.

Поступила 17.11.2005

УДК 616.981.46:616.327.2]:615.371/372-053.3/4(571.620)

Е.А.Стукун, В.К.Козлов, Г.Н.Холодок, Н.А.Просина, С.В.Крекнина, С.С.Левченко

АКТУАЛЬНОСТЬ НОСИТЕЛЬСТВА ГЕМОФИЛЬНОЙ ПАЛОЧКИ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВАКЦИНОПРОФИЛАКТИКИ ГЕМОФИЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ У ДЕТЕЙ

Хабаровский филиал ГУ ДНЦ ФПД СО РАМН – НИИ охраны материнства и детства

РЕЗЮМЕ

В статье обсуждается назофарингеальное носительство *Haemophilus influenzae* различных типов среди детей закрытых детских коллективов. Выявлено 49% носителей капсульных типов *Haemophilus influenzae*. Выявлены различия у детей до 1 года и старше двух лет в динамике бактерионосительства. Оценен уровень заболеваемости органов респираторного тракта до и после вакцинации гемофильной инфекции вакциной Акт-Хиб. Рекомендовано использование вакцины Акт-Хиб в закрытых детских коллективах.

SUMMARY

E.A.Stukun, V.K.Kozlov, G.N.Holodok, N.A.Prosina, S.V.Kreknina, S.S.Levchenko

HEMOPHILIC BACILLUS CARRIAGE AND VACCINE PROPHYLAXIS EFFICIENCY IN CHILDREN

The paper describes different types of nasopharyngeal *Haemophilus influenzae* in children. Study showed 49% of hosts with capsule type of *Haemophilus influenzae*. We found differences in bacillus carriage between children younger than 1 year and children older than 2 years. We