

УДК 611-013.85:618.39-021.3

DOI: 10.24061/2413-4260.VII.2.24.2017.9

*О.В. Гарвасюк, І.С. Давиденко*

Вищий державний навчальний заклад України  
«Буковинський державний медичний університет»  
(Чернівці, Україна)

ІМУНОГІСТОХІМІЧНА КІЛЬКІСНА ОЦІНКА  
11-БЕТА-ГІДРОКСИСТЕРОЇД-ДЕГІДРОГЕНАЗИ  
В СИНЦИТИОТРОФОБЛАСТІ ПРИ  
ПЕРЕДЧАСНОМУ ДОЗРІВАННІ ХОРІАЛЬНОГО  
ДЕРЕВА ПЛАЦЕНТИ НА ФОНІ  
ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНОЇ АНЕМІЇ ВАГІТНИХ

**Резюме**

**Вступ.** Оцінка імуногістохімічної концентрації ферменту 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази (11 $\beta$ -HSD-2) необхідна для уточнення механізмів передчасного дозрівання хоріального дерева плаценти та передчасних пологів і проведено вперше при залізодефіцитній анемії вагітних.

**Мета.** Встановити імуногістохімічну концентрацію 11 $\beta$ -HSD-2 в синцитіотрофобласті в спостереженнях із передчасним дозріванням хоріального дерева при залізодефіцитній анемії вагітних у два різні відрізки гестації – 29-32 та 33-36 тижнів гестації.

**Матеріали і методи.** Досліджено 182 плаценти. Дизайн дослідження передбачав виділення двох основних груп дослідження вище вказаних термінів гестації та по три групи порівняння. Про імуногістохімічну концентрацію 11 $\beta$ -HSD-2 судили на основі величини оптичної густини забарвлення, яку вимірювали методом комп'ютерної мікроденситометрії.

**Результати дослідження.** Імуногістохімічне забарвлення на 11 $\beta$ -HSD-2 визначалося в цитоплазмі синцитіотрофобласта плаценти у всіх групах дослідження. Основні результати кількісної оцінки забарвлення відзеркалені у висновках.

**Висновки.** Для обох вивчених відрізків гестації в групах, коли будова хоріального дерева відповідає терміну вагітності, щодо імуногістохімічної концентрації 11 $\beta$ -HSD-2 в синцитіотрофобласті, спостерігаються показники, які властиві даним термінам вагітності. Імуногістохімічна концентрація 11 $\beta$ -HSD-2 при передчасному дозріванні хоріального дерева без анемії в обох термінах вагітності перевищують концентрацію ферменту при фізіологічній вагітності. Імуногістохімічна концентрація 11 $\beta$ -HSD-2 при передчасних пологах на фоні залізодефіцитної анемії для обох вивчених термінів вагітності близька до концентрації при фізіологічній вагітності. У групах із залізодефіцитною анемією показники імуногістохімічної концентрації ферменту 11 $\beta$ -HSD-2 завжди нижчі ніж у спостереженнях без анемії.

**Ключові слова:** передчасне дозрівання; плацента; 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогеназа.

**Вступ**

Гідроксистероїд-дегідрогенази (HSD) регулюють використання та активацію рецепторів стероїдних гормонів шляхом перетворення стероїдних гормонів в їх неактивні метаболіти. Існують різні класи HSD. 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази (11 $\beta$ -HSD) каталізують взаємоперетворення активних глюкокортикоїдів (таких як кортизол і кортикостерон) в їх інертні форми (такі як кортизон і 11-дегідрокортикостерон). Ізоформа 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази 1 типу (11 $\beta$ -HSD-1) широко в великій кількості експресується в печінці, жировій тканині, головному мозку, легенях, тоді як експресія ізоформи 2 (11 $\beta$ -HSD-2) обмежується тканинами з мінералокортикоїдними рецепторами, такими як нирки, кишечник та плацента [1].

Було висловлено припущення про те, що інактивацію глюкокортикоїдів за допомогою ферменту 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази є обов'язковим механізмом в надниркових залозах, що дозволяє зв'язуванню альдостерону з мінералокортикоїдними рецепторами, і в плаценті, захищаючи плід від високого рівня циркулюючих материнських глюкокортикоїдів.

Відомо, що при фізіологічному плинні вагітності концентрація ферменту 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази поступово зростає і сягає своєї максимальної концентрації в період з 37 тижня вагітності по 40 тиждень вагітності. В цей період фермент 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогеназа впливає на надниркові залози, після чого активно починають виділятися в периферійну кров кор-

тикостероїди [2]. У свою чергу кортикостероїди впливають на посилення скорочувальної функції матки та розкриття шийки матки, таким чином запускається I етап пологів [3].

У попередніх дослідженнях нами встановлено, що при передчасному дозріванні хоріального дерева при залізодефіцитній анемії вагітних (ЗДАВ) у термін гестації 29-32 та 33-36 тижнів морфометричні параметри хоріального дерева не досягають рівня фізіологічної вагітності, у цілому ступінь зрілості хоріальних ворсинок менша, ніж при передчасному дозріванні хоріального дерева без анемії, що виражається в зменшенні відсотка термінальних «спеціалізованих» ворсинок [4-6].

Ми вважаємо необхідним вивчення імуногістохімічної концентрації ферменту 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази для уточнення можливого механізму передчасного дозрівання хоріального дерева плаценти та передчасних пологів.

**Мета дослідження**

Встановити імуногістохімічну концентрацію 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази в синцитіотрофобласті в спостереженнях із передчасним дозріванням хоріального дерева при залізодефіцитній анемії вагітних у два різні відрізки гестації – 29-32 та 33-36 тижнів гестації.

**Матеріал і методи**

Всього досліджено 182 плаценти. Дизайн дослідження передбачав виділення двох основних груп дослідження різних термінів гестації (29-32

та 33-36 тижнів вагітності) та по три групи порівняння окремо на кожен термін гестації. Отже, сформовані такі групи дослідження:

Основна група №1- спостереження поєднання ЗДАВ і передчасного дозрівання хоріального дерева у 29-32 тижнів вагітності.

Група порівняння №1А – спостереження передчасного дозрівання хоріального дерева без анемії при пологах у 29-32 тижнів вагітності.

Група порівняння №1Б - спостереження ЗДАВ у 29-32 тижнів вагітності, коли будова хоріального дерева відповідає терміну гестації.

Група порівняння №1В – спостереження без будь-якої анемії у 29-32 тижнів вагітності, коли будова хоріального дерева відповідає терміну гестації.

Основна група №2 - спостереження поєднання ЗДАВ і передчасного дозрівання хоріального дерева у 33-36 тижнів вагітності.

Група порівняння №2А – спостереження передчасного дозрівання хоріального дерева без будь-якої анемії при пологах у 33-36 тижнів вагітності.

Група порівняння №2Б - спостереження ЗДАВ у 33-36 тижнів вагітності, коли будова хоріального дерева відповідає терміну гестації.

Група порівняння №2В – спостереження без будь-якої анемії у 33-36 тижнів вагітності, коли будова хоріального дерева відповідає терміну гестації.

Кількість спостережень по кожній групі дослідження вказана в таблиці.

Шматочки плаценти фіксували 20-22 години в нейтральному забуференому 10% розчині формаліну, з наступним зневоднюванням у висхідній батареї спиртів та заливкою в парафін при 580С. На санному мікроскопі робили серійні гістологічні зрізи товщиною 5 мкм. Після депарафінізації гістологічних зрізів виконували імуногістохіміч-

ну методіку із застосуванням первинних антитіл проти ферменту «11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази» (остаточна візуалізація барвником-діамінобензидин) з дофарбовуванням клітинних ядер гематоксиліном Майєра.

Про концентрацію ферменту судили на основі величини оптичної густини імуногістохімічного специфічного забарвлення, яку вимірювали у відносних одиницях оптичної густини методом зондової комп'ютерної мікроденситометрії за допомогою комп'ютерної програми ImageJ (версія 1.48v, вільна ліцензія, W.Rasband, National Institute of Health, USA, 2015), шляхом логарифмічного перетворення середньої величини яскравості в кожному зонді [7]. Оптичну густину забарвлення використовували як міру імуногістохімічної концентрації.

Для кожного показника вираховували середню арифметичну та її похибку, порівняння між групами дослідження здійснювали за допомогою двобічного непарного критерію Ст'юдента в середовищі комп'ютерної програми PAST 3.14 (вільна ліцензія) [8]. Попередньо виконували перевірку на нормальність у вибірках методом Shapiro-Wilki за допомогою цієї ж комп'ютерної програми. Статистично значущими вважали розбіжності при  $p \leq 0,05$ .

#### Результати дослідження та їх обговорення

На сьогодні одним із найбільш обґрунтованих молекулярних механізмів природної стимуляції пологів є зростання кількості та активності в плаценті ферменту 11 $\beta$ -HSD-2 з подальшим запуском відомого каскаду подій, які в решті завершуються як підсиленою скоротливою діяльністю матки так і розкриттям шийки матки. Отримані показники імуногістохімічної концентрації 11 $\beta$ -HSD-2 зазначені у таблиці.

Таблиця 1

#### Оптична густина імуногістохімічного забарвлення на 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогеназу в трофобласті хоріальних ворсинок плаценти

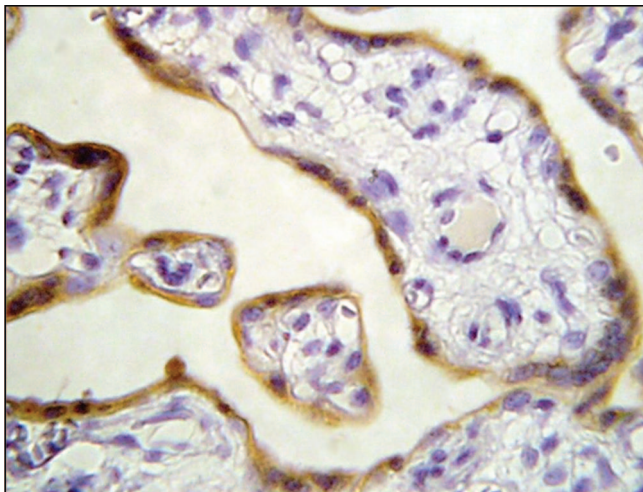
Групи дослідження	Кількість досліджуваних плацент	Оптична густина забарвлення (в.о.оптичної густини)
Фізіологічній вагітність	21	0,285±0,0012
29-32 тижні гестації		
Основна група №1- спостереження поєднання ЗДАВ і передчасного дозрівання хоріального дерева	18	0,281±0,0018 p 1A=0,005 p 1Б<0,001 p 1В<0,001
Група порівняння №1А – спостереження передчасного дозрівання хоріального дерева без анемії	19	0,288±0,0015
Група порівняння №1Б - спостереження ЗДАВ, коли будова хоріального дерева відповідає терміну гестації	20	0,167±0,0018 p ФВ<0,001
Група порівняння №1В – спостереження без будь-якої анемії, коли будова хоріального дерева відповідає терміну гестації	21	0,178±0,0017 p ФВ <0,001
33-36 тижнів гестації		
Основна група №2 - спостереження поєднання ЗДАВ і передчасного дозрівання хоріального дерева	20	0,283±0,0017 p 2А=0,007 p 2Б<0,001 p 2В<0,001

Продовження таблиці 1

Група порівняння №2А – спостереження передчасного дозрівання хоріального дерева без будь-якої анемії	22	0,292±0,0016 р ФВ=0,008
Група порівняння №2Б - спостереження ЗДАВ, коли будова хоріального дерева відповідає терміну гестації	20	0,186±0,0018 р ФВ<0,001
Група порівняння №2В – спостереження без будь-якої анемії, коли будова хоріального дерева відповідає терміну гестації	21	0,198±0,0016 р ФВ<0,001

**Примітка.** р ФВ – вірогідність розбіжності середніх показників з фізіологічною вагітністю; р1А – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи №1 з групою порівняння №1А; р1В – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи №1 з групою порівняння №1В; р2А – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи №2 з групою порівняння №2А; р2В – вірогідність розбіжності середніх показників основної групи №2 з групою порівняння №2В; якщо вірогідність в таблиці не вказана, то вона була більшою за 0,05.

Імуногістохімічним методом було встановлено, що для обох вивчених відрізків гестації (29-32 та 33-36 тижнів) в групах без будь-якої анемії, коли будова хоріального дерева відповідає терміну гестації, концентрація 11β-HSD-2 в синцитіотрофобласті значно менша в порівнянні з фізіологічною вагітністю, на противагу ці ж показники, вочевидь, властиві даним термінам вагітності. Ми отримали імуногістохімічну концентрацію 11β-HSD-2 у зазначених групах у відрізок вагітності 29-32 тижні нижчий, ніж у відрізок гестації 33-36 тижнів гестації, з тенденцією до зростання концентрації з плином вагітності (рис.1).



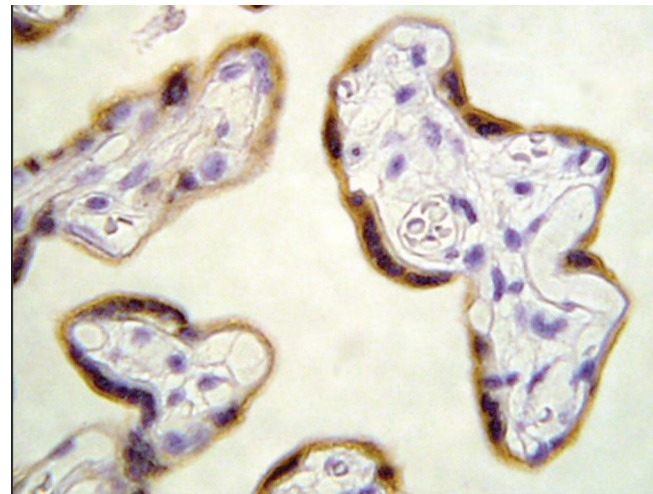
**Рис 1.** Основна група №1 (вагітність 31 тиждень). Хоріальні ворсинки плацент жінок з передчасним дозріванням хоріального дерева. Імуногістохімічна методика з первинними антитілами проти 11бета-гідроксистероїд-дегідрогенази з використанням діамінобензидину і дозabarвленням ядер гематоксиліном Майера. Об.40<sup>х</sup>, Ок.10<sup>х</sup>

Слід відмітити показники імуногістохімічної концентрації 11β-HSD-2 в групах передчасного дозрівання хоріального дерева без анемії для обох вивчених відрізків гестації (29-32 та 33-36 тижнів), які перевищують концентрацію ферменту в групі з фізіологічним плином вагітності. У відрізок гестації 33-36 тижнів вагітності показник імуногістохімічної концентрації 11β-HSD-2 дещо вищий в порівнянні з концентрацією 11β-HSD-2 у відрізок гестації в 29-32 тижні вагітності (рис.2).

Щодо імуногістохімічної концентрації 11β-HSD-2 в групах поєднання ЗДАВ і передчасного дозрівання хоріального дерева для обох вивчених відрізків гестації (29-32 та 33-36 тижнів)

спостерігаються показники, що наближаються до концентрації 11β-HSD-2 при фізіологічній вагітності. Таким чином, ми припускаємо, що передчасні пологи у даних групах дослідження, скоріше за все, пов'язані саме з підсиленою продукцією плацентою 11β-HSD-2.

Щодо імуногістохімічної концентрації ферменту 11β-HSD-2 у всіх групах спостереження на фоні ЗДАВ для обох вивчених відрізків гестації (29-32 та 33-36 тижнів) простежується імуногістохімічна концентрація 11β-HSD-2, яка завжди нижча, ніж у групах без ЗДАВ.



**Рис 2.** Основна група №2 (вагітність 35 тижнів). Хоріальні ворсинки плацент жінок з передчасним дозріванням хоріального дерева. Імуногістохімічна методика з первинними антитілами проти 11бета-гідроксистероїд-дегідрогенази з використанням діамінобензидину і дозabarвленням ядер гематоксиліном Майера. Об.40<sup>х</sup>, Ок.10<sup>х</sup>

**Висновки.**

1. Для обох вивчених відрізків гестації в групах, коли будова хоріального дерева відповідає терміну вагітності, щодо імуногістохімічної концентрації ферменту 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази в синцитіотрофобласті, спостерігаються показники, які властиві даним термінам вагітності.

2. Імуногістохімічна концентрація ферменту 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази при передчасному дозріванні хоріального дерева без анемії в обох термінах вагітності перевищують концентрацію ферменту при фізіологічній вагітності.

3. Імуногістохімічна концентрація ферменту 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази при передчасних пологах на фоні залізодефіцитної ане-

мії для обох вивчених термінів вагітності близька до концентрації при фізіологічній вагітності.

4. У групах із залізодефіцитною анемією показники імуногістохімічної концентрації ферменту 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази завжди нижчі ніж у спостереженнях без анемії.

#### Література

1. Benirschke K, Burton GJ, Baergen RN. Pathology of the human placenta. New York: Springer; 2012.
2. Breymann C. Iron deficiency and anaemia in pregnancy: modern aspects of diagnosis and therapy. Blood Cells Mol Dis. 2002 Nov-Dec;29(3):506-16.
3. Гарвасюк ОВ, Давиденко ІС. Морфометричні параметри передчасного дозрівання хоріального дерева плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних у гестаційному аспекті. Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина. 2015;5(4):90-4.
4. Давиденко ІС, Тюленева ОА, Гошовська АВ. Гістологічні критерії зрілості хоріального дерева для діагностики передчасного та уповільненого дозрівання плаценти людини. Буковинський медичний вісник. 2011;15(1):127-30.
5. Pepe GJ, Burch MG, Albrecht ED. Expression of the 11- $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase types 1 and 2 proteins in human and baboon placental syncytiotrophoblast. Placenta. 1999 Sept;20(7):575-82.
6. Ferreira T, Rasband W. ImageJ User Guide. IJ 1.46r. New York: National Institute of Health; 2012. 198 p. [Internet]. [Cited 2017 Mar 27]. Available from: <https://imagej.nih.gov/ij/docs/guide/user-guide.pdf>
7. Hammer O. PAST: Paleontological Statistics, Version 3.0. Reference manual: Oslo: Natural History Museum University of Oslo; 2013. 243 p.
8. Гарвасюк ОВ, Давиденко ІС, Ташук КГ. Імуногістохімічна концентрація плацентарних гормонів у трофобласті хоріальних ворсинок у вагітних із залізодефіцитною анемією при передчасному дозріванні хоріального дерева. Буковинський медичний вісник. 2017;21(1):34-

#### ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА 11-БЕТА-ГИДРОКСИСТЕРОИД- ДЕГИДРОГЕНАЗЫ В СИНЦИТИОТРОФОБЛАСТЕ ПРИ ПРЕЖДЕВРЕМЕННОМ СОЗРЕВАНИИ ХОРИАЛЬНОГО ДЕРЕВА ПЛАЦЕНТЫ НА ФОНЕ ЖЕЛЕЗОДЕФИЦИТНОЙ АНЕМИИ БЕРЕМЕННЫХ

*А.В.Гарвасюк, И.С.Давыденко*

Высшее государственное учебное заведение  
Украины «Буковинский государственный  
медицинский университет»  
(Черновцы, Украина)

#### Резюме

**Введение.** Оценка иммуногистохимической концентрации фермента 11-бета-гидроксистероид-дегидрогеназы (11 $\beta$ -HSD-2) необходима для уточнения механизмов преждевременного созревания хоріального дерева плаценты и преждевременных родов, исследование проведено впервые при железодефицитной анемии беременных.

**Цель.** Установить иммуногистохимическую концентрацию 11 $\beta$ -HSD-2 в синцитиотрофобласте в наблюдениях с преждевременным созреванием хоріального дерева при железодефицитной анемии беременных в два разных отрезка гестации - 29-32 и 33-36 недель гестации.

**Материалы и методы.** Исследовано 182 плаценты. Дизайн исследования предусматривал выделение двух основных групп исследования выше указанных сроков гестации и по три группы сравнения. О иммуногистохимической концентрации 11 $\beta$ -HSD-2 судили на основе величины опти-

#### Перспектива подальших досліджень.

У подальшому планується вивчити взаємозв'язок імуногістохімічної концентрації 11-бета-гідроксистероїд-дегідрогенази з концентрацією гормонів вагітності в синцитиотрофобласті.

#### 11 $\beta$ -HYDROXYSTEROID-DEHYDROGENASE IMMUNOHISTOCHEMICAL QUANTITATIVE EVALUATION IN SYNCYTIOTROPHOBLAST OF PRETERM MATURING OF CHORIAL PLACENTAL TREE AGAINST IRON-DEFICIENCY ANEMIA OF GRAVIDAS IN GESTATIONAL ASPECT

*O.V. Garvasiuk, I.S. Davydenko*

Higher state educational  
establishment "Bukovinian  
State Medical University"  
(Chernivtsi, Ukraine)

#### Summary

**Introduction.** Evaluation of the immunohistochemical concentration of the enzyme 11 $\beta$ -hydroxysteroid-dehydrogenase (11 $\beta$ -HSD-2) is necessary to specify the mechanisms of preterm maturing of the choral placental tree and preterm labor. It first performed in gravidas with iron-deficiency anemia.

The aim is to determine the immunohistochemical concentration of 11 $\beta$ -HSD-2 in syncytiotrophoblast in the observations of preterm maturing of the placental choral tree in gravidas with iron-deficiency anemia in two different periods of gestation – 29-32 and 33-36 weeks of gestation.

**Materials and methods.** 182 placentas were examined. The research design provided for the allocation of two major groups of the above mentioned gestation periods and three comparison groups respectively. The immunohistochemical concentration of 11 $\beta$ -HSD-2 analyzed based on the value of optical density, which was measured by

ческой плотности окраски, которую измеряли методом компьютерной микроденситометрии.

**Результаты исследования.** Иммуногистохимическое окрашивание на 11 $\beta$ -HSD-2 определялось в цитоплазме синцитиотрофобласта плацент во всех группах исследования. Основные результаты количественной оценки окраски отражены в выводах.

**Выводы.** Для обоих изученных отрезков гестации в группах, когда строение хориального дерева соответствует сроку беременности, по отношению к иммуногистохимической концентрации 11 $\beta$ -HSD-2 в синцитиотрофобласте, наблюдаются показатели, которые свойственны данным срокам беременности. Иммуногистохимическая концентрация 11 $\beta$ -HSD-2 при преждевременном созревании хориального дерева без анемии в обоих сроках беременности превышают концентрацию фермента при физиологической беременности. Иммуногистохимическая концентрация 11 $\beta$ -HSD-2 при преждевременных родах на фоне железодефицитной анемии для обеих изученных сроков беременности близка к концентрации при физиологической беременности. В группах с железодефицитной анемией показатели иммуногистохимической концентрации фермента 11 $\beta$ -HSD-2 всегда ниже, чем при наблюдении без анемии.

**Ключевые слова:** преждевременное созревание; плацента; 11-бета-гидроксистероид-дегидрогеназа.

means of computed microdensitometry.

**Results.** Immunohistochemical staining for 11 $\beta$ -HSD-2 observed in the cytoplasm of the syncytiotrophoblast in placentas of all groups studied. The main results of the staining quantitative analysis represented in conclusions.

**Conclusions.** For both sections studied in groups of gestation when the structure of the chorionic placental tree corresponds to the duration of pregnancy in immunohistochemical concentrations of 11 $\beta$ -HSD-2 in syncytiotrophoblast there are indicators that are inherent in these periods of pregnancy. Immunohistochemical concentration of 11 $\beta$ -HSD-2 in preterm maturing of the placental chorionic tree without anemia in both gestation periods exceeds the concentration of the enzyme in physiological pregnancy. Immunohistochemical concentration of 11 $\beta$ -HSD-2 in preterm labor against the background of iron-deficiency anemia in both gestation periods studied is similar to concentrations in physiological pregnancy. In groups with iron-deficiency anemia, the indices of immunohistochemical concentration of the enzyme 11 $\beta$ -HSD-2 are always lower in comparison with those observations without anemia.

**Key words:** preterm maturing; placenta; 11 $\beta$ -hydroxysteroid-dehydrogenase.

**Контактна інформація:**

Давиденко Ігор Святославович – доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри патологічної анатомії Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет».

**Контактна адреса:** Театральна площа, 2, м.Чернівці, 58002, Україна.

**Контактний телефон:** +38(095)1936146.

**e-mail:** davydenko.igor@bsmu.edu.ua

**ORCID:** orcid.org/0000-0001-6712-3396

**Researcher ID (Web of Science):**

B-4586-2017

**Author ID (Scopus):** 6602264146

**Контактная информация:**

Давиденко Игорь Святославович - доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии Высшего государственного учебного заведения Украины «Буковинский государственный медицинский университет».

**Контактный адрес:** Театральная площадь, 2, Черновцы, 58002, Украина.

**Контактный телефон:**

+38 (095) 1936146.

**e-mail:** davydenko.igor@bsmu.edu.ua

**ORCID:** orcid.org/0000-0001-6712-3396

**Researcher ID (Web of Science)**

B-4586-2017

**Author ID (Scopus):** 6602264146

**Contact Information:**

Igor Davidenko Svyatoslavovych - MD, Professor, Head of Department of Pathological Anatomy of Higher State Educational Establishment of Ukraine «Bukovinian State Medical University».

**Contact address:** Theatre Square, 2, Chernivtsi, 58002, Ukraine.

**Phone:** +38(095)1936146.

**e-mail:** davydenko.igor@bsmu.edu.ua

**ORCID:** orcid.org/0000-0001-6712-3396

**Researcher ID (Web of Science):**

B-4586-2017

**Author ID (Scopus):** 6602264146