

© Анчева І.А.

УДК: 618.36-06:616.155.194]-056.7-07-08

Анчева І.А.

Одеський національний медичний університет, кафедри акушерства та гінекології №1 (пров. Валіховський, 2, м.Одеса, 65082, Україна)

ПАТОМОРФОЛОГІЧНИЙ СУБСТРАТ ПРОГРЕСУВАННЯ ДИСФУНКЦІЇ ПЛАЦЕНТИ У ВАГІТНИХ З ПРОЯВАМИ СИДЕРОПЕНІЧНОГО СИНДРОМУ

Резюме. Метою дослідження була оцінка функціонального стану рецепторів до естрогенів та прогестерону в плаценті жінок, що страждали протягом вагітності на дисфункцію плаценти та/або залізодефіцитну анемію. Показано, що експресія рецепторів до естрогенів та прогестерону у вагітних, що страждають на залізодефіцитну анемію та дисфункцію плаценти достовірно ($p < 0,05$) зменшується, при цьому зміни експресії рецепторів до естрогенів та прогестерону у плаценті жінок, що під час вагітності мали прояви залізодефіцитної анемії та дисфункції плаценти, тісно корелювали зі вмістом відповідних гормонів у сироватці крові. Обговорюється зв'язок патогенетичних механізмів порушення гормональної регуляції у вагітних з дисфункцією плаценти із вираженістю патоморфологічних змін на тканинному, клітинному та субклітинному рівні.

Ключові слова: дисфункція плаценти, залізодефіцитна анемія, рецептори, гормони, імуногістохімія.

Вступ

Плацента, яка виступає основною ланкою взаємозв'язку між організмами матері і плоду являє собою одну з найбільш складних тканин людини [Baschat et al., 2007; Longtine, Nelson, 2011]. Цей, наймолодший в еволюційному ряду орган, відрізняється від інших, перш за все тим, що за невеликий період часу зазнає швидкий розвиток, досягає повної зрілості і, на думку ряду дослідників, частково "старіє". Такий темп розвитку, зростаючі потреби плоду, висувають особливі вимоги до метаболічних процесів, які лежать в основі функціональної діяльності плаценти: вони повинні володіти високою пластичністю, а регулюючи їх механізми мати широкі можливості диференціального контролю [Longtine, Nelson, 2011; Барінова, Котов, 2013].

Важливою є роль плаценти у функціонуванні біологічної системи "мати - плацента - плід", участь її в інтеграції обмінних процесів між організмами матері і плоду обумовлює неослабний інтерес до вивчення біохімії та гістохімії цього органу. Дисфункція плаценти нерідко призводить до переривання вагітності і супроводжується хронічною гіпоксією та/або гіпотрофією плода. Вона висуває однією з основних причин перинатальної захворюваності та смертності. Частота цієї патології при звичному невиношуванні коливається від 50 до 77% , при гестозах вона становить 30-35% , при екстрагенітальній патології 24-45% [Baschat et al., 2007; Longtine, Nelson, 2011; Барінова, Котов, 2013; Stanek et al., 2014].

Часто дисфункція плаценти виникає у вагітних, у котрих розвинулися анемічні стани різної етіології, серед яких найбільш часто зустрічається залізодефіцитна анемія [Дворецкий, Заспа, 2008]. Відповідно до даних літератури частота маніфестного дефіциту заліза у вагітних у світі коливається від 25 до 50% [Анчева, 2013]. В Україні та інших країнах СНД за останні 10 років відзначається значне збільшення частоти залізодефіцитної анемії серед вагітних [Малкох и др., 2013]. За нашими даними у 2009 - 2013 роках частота анемії вагітних зростає з 15,0% до 22,6%. У кожному другому випадку причиною анемії у вагітних є залізодефіцит, а у 22,4% жінок

прояви помірної анемії відзначаються вже на ранніх термінах вагітності [Анчева, 2013].

Метою дослідження була оцінка функціонального стану рецепторів до естрогенів та прогестерону в плаценті жінок, що страждали протягом вагітності на дисфункцію плаценти та/або залізодефіцитну анемію.

Матеріали та методи

Дослідження виконано на базі міського пологового будинку №2 протягом 2013 р. Обстежено 30 вагітних з проявами анемії та дисфункції плаценти у терміні вагітності 28-36 тижнів відповідно до наказів МОЗУ №782 від 29.12.2005 "Про затвердження клінічних протоколів з акушерської та гінекологічної допомоги" та №417 від 15.07.2011 № 417 "Про організацію амбулаторної акушерсько-гінекологічної допомоги в Україні" [Наказ МОЗУ №782 ... , 2005; Наказ МОЗУ №417..., 2011].

Всі вагітні були рандомізовано розподілені на три групи: I (контрольну) групу склали жінки з фізіологічним перебігом вагітності та пологів - 10 спостережень. II групу склали жінки, що страждали на анемію вагітності, III групу - жінки з дисфункцією плаценти і анемією. Після пологів в усіх жінок були одержані плаценти, які підлягали органометричному, макроскопічному, загальногістологічному, гістохімічному та імуногістохімічному методу.

Рівень експресії рецепторів до естрогенів (RE) та прогестерону (RP) оцінювали за допомогою непрямого стрептавідин-пероксидазного методу. Протокол забарвлення: депарафінізували шматочки тканини на скло, блокували ендogenous пероксидазу 3% розчином пероксиду водню, обробляли предметне скло водою, блокували неспецифічні протеїнові сполуки двома краплями 1% BSA, промивали у PBS-буфері, наносили первинні антитіла до рецепторів естрогенів або прогестерону (фірма DAKO, Данія) на 1 годину. Після промивки в PBS-буфері наносили вторинні антитіла. Надалі проводили промивку в PBS-буфері, наносили 2 краплі комплексу стрептавідин-пероксидази та інкубували на протязі 30 хв., у подальшому промивали та наносили

АЕС - хромоген - розчин - проводили інкубацію від 5 до 20 хвилин до появи коричневого забарвлення;

Розповсюдженість та інтенсивність реакції оцінювали напівкількісним методом в балах, від 0 до 3 балів:

а) розповсюдженість: 0 - немає забарвлення; 1 - менше 10% позитивно забарвлених клітин; 2 - більше 10% і менше 50% позитивно забарвлених клітин; 3 - гомогенне забарвлення більше 50% клітин;

б) інтенсивності реакції: 0 - немає видимого забарвлення; 1 - слабе забарвлення; 2 - помірне забарвлення; 3 - виразне забарвлення.

При характеристиці плацентарної недостатності відмічали ступінь компенсації хронічної недостатності (компенсована, субкомпенсована, декомпенсована). Відсутність морфологічних ознак плацентарної недостатності розцінювали як компенсований стан плаценти. Імуноморфологічні дослідження проводили у спеціалізованій лабораторії ДУ "ПАГ НАМНУ" (м.Київ).

Діагностику дисфункції плаценти проводили на підставі клінічних спостережень за перебігом вагітності, ультразвукової фетоплацентометрії, доплерометрії, вивчення гормональної функції плаценти. Визначення гормонів фетоплацентарного комплексу в сироватці крові вагітних - естріолу, прогестерону, плацентарного лактогену, а також специфічних маркерів ферокінетичного статусу - феритину та трансферину - проводили імуноферментним методом з використанням комерційних тест-систем (ІФА, DRG, США; ІФА "Хема", Росія). При проведенні доплерометрії на ультразвуковому апараті Toshiba Xaria SSA660A (Японія) оцінювали матково-плацентарний кровотік з використанням імпульсної доплерометрії та кольорового доплерівського картування.

Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою пакету програм Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США) [Боровиков, 2003].

Результати. Обговорення

Середній вік обстежених склав $26,9 \pm 0,2$ років. У 80,0% вагітних II групи та 50,0% - III, вагітність була першою. Всі вагітні мали середню освіту та були заміжні. При оцінці особливостей перебігу вагітності встановлено, що в одному випадку відзначалося багатоводдя, у трьох - маловоддя. Низька плацентажія відзначалася у однієї пацієнтки. На момент пологів дистрес плода визначався у 60,0% вагітних.

При оцінці експресії рецепторів прогестерону та естрогенів були одержані наступні результати (рис. 1).

Як видно з наведеного рисунку, для вагітних з комбінацією залізодефіцитної анемії та дисфункції плаценти (III група) є характерним різке зниження експресії рецепторів до естрогенів (до $1,1 \pm 0,1$ балів) у децидуальних клітинах та повної відсутності експресії у клітинах ворсин хоріону. Зниження активності експресії рецепторів до естрогенів у хворих на анемію (II група) було менш вираженим - на рівні $1,1 \pm 0,1$ балів для децидуальних клітин та на рівні $0,8 \pm 0,1$ балів у клітинах ворсин

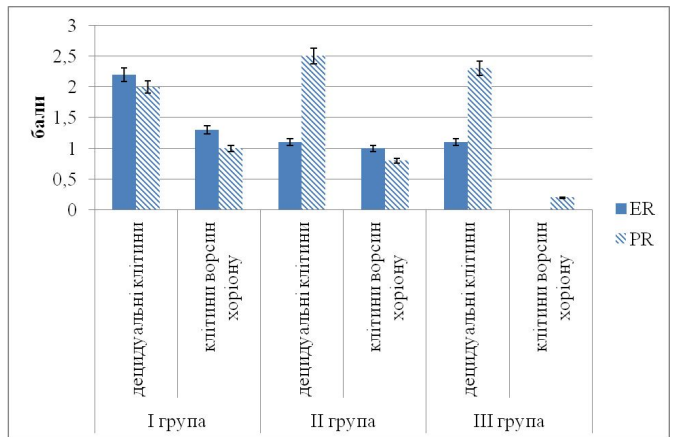


Рис. 1. Експресія рецепторів до статевих гормонів у досліджених плацентах.

хоріону. Для порівняння - у контрольній групі значення відповідних показників склали, відповідно, $2,2 \pm 0,2$ та $1,3 \pm 0,1$ балів. Від зазначеного розподілу активності експресії рецепторів до естрогенів відрізнялися дані щодо експресії рецепторів до прогестерону. Вимагає пояснення та обставина, що активність експресії PR знизилася у клітинах ворсин хоріону до $0,2 \pm 0,04$ балів.

Як видно з рисунку 2, у пацієнтів із ЗДА відзначається зниження розповсюдженості реакції (менше 10% позитивно забарвлених клітин) та послаблення інтенсивності експресії МКАТ до рецепторів естрогенів в ядрах синцитія ворсинок. При наявності ендотеліальної дисфункції (рис. 2б) - експресія взагалі не визначалася.

Аналогічно змінюються й показники розповсюдженості та інтенсивності реакції рецепторів прогестерону - до $0,2 \pm 0,06$ балів у клітинах ворсин хоріону при сполученні залізодефіцитної анемії та дисфункції плаценти (рис. 3). Описані відмінності є статистично значущими ($p < 0,05$). У зв'язку із цим являють інтерес результати дослідження гормонального профіля вагітних, що прийняли участь у дослідженні. Дослідження гормональної функції плаценти показало, що у 25 (83,3%) вагітних мало місце деяке зниження рівня прогестерону у сироватці крові - $229,4 \pm 12,5$ нмоль/л ($364,7 \pm 13,3$ нмоль/л при неускладненому перебігу гестаційного процесу; $p < 0,05$). Вміст естріолу склав у контрольній групі $3,5 \pm 0,3$ нмоль/л, у II групі - $2,6 \pm 0,3$ нмоль/л, а у III групі - $2,3 \pm 0,2$ нмоль/л. Таким чином, зміни експресії рецепторів до статевих гормонів у плаценті тісно корелювали зі вмістом відповідних гормонів у сироватці крові ($r = 0,68$ та $r = 0,65$).

Зниження експресії рецепторів статевих гормонів у тканині може пояснюватися як прямим впливом гіпоксії, так і порушенням функціонування нітрергічних систем організму. Такої думки, зокрема, дотримуються Ramirez-Velez R. зі співавторами [2013], втім ця гіпотеза потребує ретельної перевірки. Не можна виключати й того, що наявність зниження експресії рецепторів до естрогенів та прогестерону у вагітних, хворих на залізодефіцитну анемію, сприяє розвитку дисфункції плаценти. В

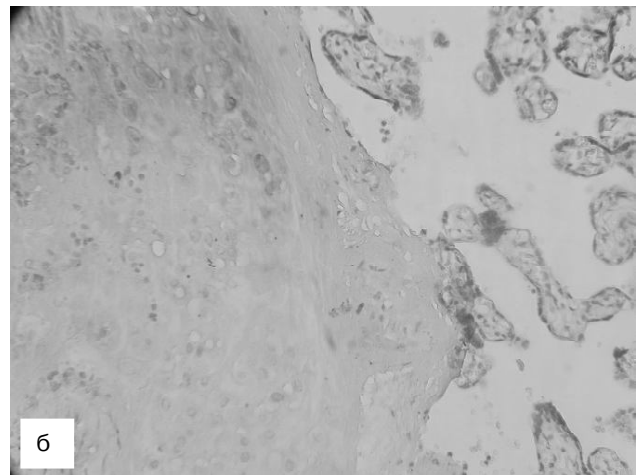
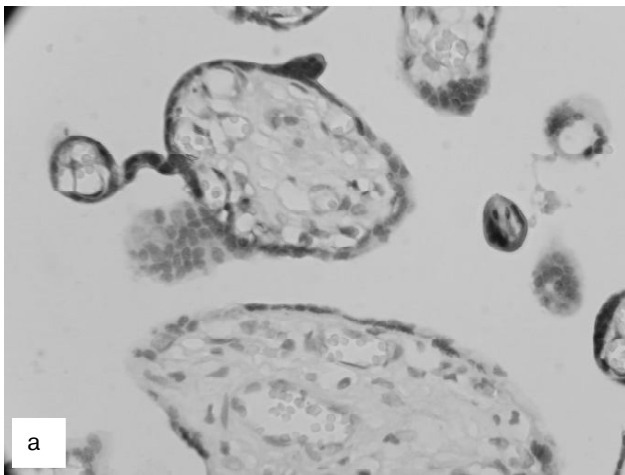


Рис. 2. Зниження (а) та відсутність (б) інтенсивності експресії МКАТ до рецепторів естрогенів в ядрах синцитія ворсинки. Непрямий стрептавідин-пероксидазний метод виявлення експресії з МКАТ до рецепторів естрогенів (імуногістохімічне дослідження). Ок. 10, Об.20.

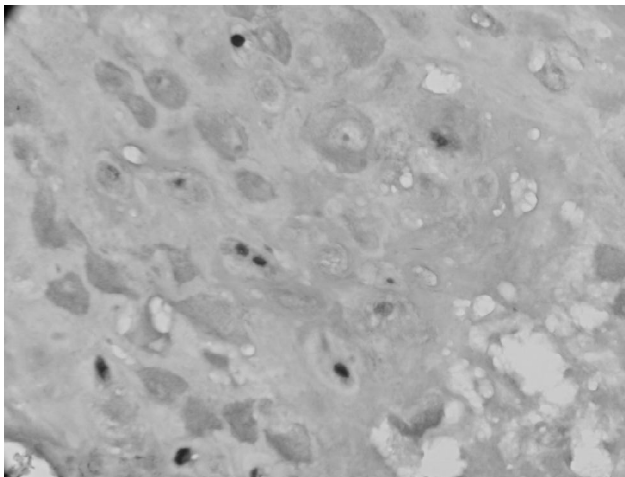


Рис. 3. Плацента жінки 2 групи. Зниження інтенсивності експресії МКАТ до рецепторів прогестерону у клітинах дециду. Непрямий стрептавідин-пероксидазний метод виявлення експресії з МКАТ до рецепторів прогестерону (імуногістохімічне дослідження). Ок. 10, Об.20.

одній із відомих робіт Bukovsky A. зі співавторами [2003] вказують на те, що рецептори до статевих стероїдних гормонів розташовані як у цитоплазмі, так і в ядрах клітин плацентарної тканини. При цьому їх експресія може варіювати в залежності від вираженості клітинної проліферації та ступеня диференціації тканини [Bukovsky et al., 2003]. На нашу думку, зниження експресії рецепторів все ж є вторинним й обумовлено, перш за все, метаболічними змінами, обумовленими гемічною та тканинною гіпоксією, притаманною залізодефіцитній анемії, при якій реалізуються наступні патогенетичні механізми.

Недостатність гемового заліза призводить до гемічної гіпоксії, тому що знижується здатність еритроцитів до зв'язування і транспорту кисню. Зниження транспортної функції крові призводить до посилення роботи серця. Підвищення ударного об'єму і частоти серцевих скорочень призводить до збільшення хвилинного об'

’єму крові, що частково компенсує нестачу кисню. Цей механізм стає недостатнім при вираженій анемії й розвивається тканинна гіпоксія. Гіпоксія призводить до порушення метаболізму та розвитку ацидозу. Зменшення синтезу міоглобіну призводить до м'язової гіпотонії та дистрофії. Виснаження клітинних ферментів, що беруть участь в основних видах обміну, призводить до порушення трофіки клітин і тканин, їх дегенеративних змін. Недостатнє надходження заліза в кістковий мозок обумовлює порушення еритропоезу, що веде до посилення вираженості анемії. При виснаженні клітинного заліза у внутрішній обмін набуває залізо запасів. Таким чином, в результаті перерахованих механізмів розвивається сидеропенія - збіднення залізом клітин. На тлі описаних змін відбувається зміна експресії багатьох специфічних білків клітини, в тому числі рецепторів до статевих стероїдних гормонів.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Експресія рецепторів до естрогенів та прогестерону у вагітних, що страждають на залізодефіцитну анемію та дисфункцію плаценти достовірно ($p < 0,05$) зменшується у порівнянні з контрольними значеннями.

2. Зміни експресії рецепторів до естрогенів та прогестерону у плаценті жінок, що під час вагітності мали прояви залізодефіцитної анемії та дисфункції плаценти, тісно корелювали з вмістом відповідних гормонів у сироватці крові ($r = 0,68$ та $r = 0,65$).

3. Патогенетичні механізми порушення гормональної регуляції у вагітних з дисфункцією плаценти тісно пов'язані з вираженістю патоморфологічних змін, які, зокрема, проявляються змінами експресії рецепторів до естрогенів та прогестерону.

Перспективи подальших досліджень пов'язані з розробкою патогенетично обґрунтованої комплексної терапії ЗДА у жінок з проявами дисфункції плаценти на різних етапах гестації.

Список літератури

- Анчева І.А. Клінічна епідеміологія анемії вагітності на півдні України: ретроспективне дослідження /І.А.Анчева / Вісник проблем біол. і мед.- 2013.- Т.2 №3.- С.112-114.
- Барінова І.В. Сравнительные аспекты патогенеза фетоплацентарной недостаточности с антенатальной гибелью плода и с рождением живого новорожденного /И.В.Барінова, Ю.Б.Котов //Росс. вестник акушера-гинеколога.- 2013, №4.- С.22-26.
- Боровиков В.П. Statistica. Искусство анализа данных на компьютере / В.П.Боровиков.- СПб.: Питер, 2003.- 688с.
- Дворецкий Л.И. Железодефицитная анемия в практике акушера-гинеколога /Л.И.Дворецкий, Е.А.Заспа // РМЖ.- 2008.- Т.16(29).- С.898-906.
- Малкоч А.В. Железодефицитные состояния и железодефицитная анемия у женщин детородного возраста /А.В.Малкоч, Л.А.Анастасевич, Н.Н.Филатова //Лечащий врач.- 2013.- №4.- С.37.
- Наказ МОЗ України № 417 від 15.07.2011 "Про організацію амбулаторної акушерсько-гінекологічної допомоги в Україні". Електронний ресурс. Режим доступу: www.moz.gov.ua
- Наказ МОЗУ № 782 від 29.12.2005 "Про затвердження клінічних протоколів з акушерської та гінекологічної допомоги". Електронний ресурс. Режим доступу: www.moz.gov.ua
- Effect of exercise training on Enos expression, NO production and oxygen metabolism in human placenta /Ramirez-Volez R., Bustamante J., Czerniczyniec A. [et al.] //PLoS One.- 2013.- Vol.8(11).- e80225.
- Longtine M.S. Placental dysfunction and fetal programming: the importance of placental size, shape, histopathology, and molecular composition /M.S. Longtine, D.M.Nelson //Semin Reprod. Med.- 2011.- Vol.29(3).- P.187-196.
- Placental expression of estrogen receptor beta and its hormone binding variant - comparison with estrogen receptor alpha and a role for estrogen receptors in asymmetric division and differentiation of estrogen-dependent cells /Bukovsky A., Caudle M.R., Cekanova M. [et al.] //Reprod. Biol. Endocrinol.- 2003.- Vol.1.- P.36.
- Predictors of neonatal outcome in early-onset placental dysfunction /A.A.Baschat, E.Cosmi, C.M.Bilardo [et al.] //Obstet. Gynecol.- 2007.- Vol.109 (2 Pt 1).- P.253-261.
- Stanek J. Clinicoplacental phenotypes vary with gestational age: an analysis by classical and clustering methods / J.Stanek, J.Biesiada, M.Trzeszcz // Acta Obst. Gynecol. Scand.- 2014.- Vol.93(4).- P.392-398.

Анчева І.А.

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЙ СУБСТРАТ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ ДИСФУНКЦИИ ПЛАЦЕНТЫ У БЕРЕМЕННЫХ С ПРОЯВЛЕНИЯМИ СИДЕРОПЕНИЧЕСКОГО СИНДРОМА

Резюме. Целью исследования была оценка функционального состояния рецепторов к эстрогенам и прогестерону в плаценте женщины, страдавшей во время беременности дисфункцией плаценты и/или железодефицитной анемией. Показано, что экспрессия рецепторов к эстрогенам и прогестерону у беременных, страдающих железодефицитной анемией и дисфункцией плаценты достоверно ($p < 0,05$) снижается, при этом изменения экспрессии рецепторов к эстрогенам и прогестерону в плаценте женщин, которые во время беременности имели проявления железодефицитной анемии и дисфункции плаценты, тесно коррелировали с содержанием соответствующих гормонов в сыворотке крови. Обсуждается связь патогенетических механизмов нарушения гормональной регуляции у беременных с дисфункцией плаценты с выраженностью патоморфологических изменений на тканевом, клеточном и субклеточном уровне.

Ключевые слова: дисфункция плаценты, железодефицитная анемия, рецепторы, гормоны, иммуногистохимия.

Ancheva I.A.

PATHOLOGIC SUBSTRATE OF PROGRESSION OF DYSFUNCTION OF THE PLACENTA IN PREGNANT WOMEN WITH SIGNS SYDEROPENIC SYNDROME

Summary. The aim of the study was to evaluate the functional state of receptors for estrogen and progesterone in the placenta of women who suffered during pregnancy on placental dysfunction and / or iron deficiency anemia. It is shown that expression of receptors of estrogen and progesterone in pregnant women suffering from iron deficiency anemia and placental dysfunction was significantly ($p < 0,05$) decreased, while changing the expression of receptors for estrogen and progesterone in the placenta of women have been had the manifestations of iron anemia and placental dysfunction during pregnancy is closely correlated with the contents of hormones in serum ($r = 0,68$ and $r = 0,65$). The connection between pathogenetic mechanisms of hormonal regulation in pregnant women with placental dysfunction severity of pathological changes at the tissue, cellular and subcellular level is discussed.

Key words: placental dysfunction, iron deficiency, receptors, hormones, immunohistochemistry.

Стаття надійшла до редакції 21 травня 2014 р.

Анчева Ірина Анатоліївна - к. мед. н., асистент кафедри акушерства і гінекології №1ОНМедУ; irina.an-va@rambler.ru

© Дзись Н.П.

УДК: 618.146-007.17-055.26

Дзись Н.П.

Вінницький національний медичний університет імені М.І.Пирогова, кафедра акушерства гінекології №2 (вул.Пирогова, 56, м.Вінниця, 21018, Україна)

ВСТАНОВЛЕННЯ ЙМОВІРНИХ ПРИЧИН ДИСПЛАЗІЇ ШИЙКИ МАТКИ У ЖІНОК РАНЬОГО ТА СЕРЕДЬОГО РЕПРОДУКТИВНОГО ВІКУ

Резюме. Проаналізовані результати обстеження 59 пацієток раннього та середнього репродуктивного віку з дисплазією шийки матки. Встановлено високий відсоток мікробного навантаження в поєднанні з вірусами, хламідіями, уреоплазмою та