

**ВПЛИВ ЗАЛІЗОДЕФИЦИТНОЇ АНЕМІЇ ВАГІТНИХ НА СИНТЕТИЧНУ ФУНКЦІЮ ТА АКТИВНІСТЬ ПРОЦЕСІВ АПОПТОЗУ В ПЕРИФЕРІЙНОМУ ЦИТОТРОФОБЛАСТІ ПЛАЦЕНТИ**  
**В.М. Костюк**

*Івано-Франківський національний медичний університет*

**ВЛИЯНИЕ ЖЕЛЕЗОДЕФИЦИТНОЙ АНЕМИИ БЕРЕМЕННЫХ НА СИНТЕТИЧЕСКУЮ ФУНКЦИЮ И АКТИВНОСТЬ ПРОЦЕССОВ АПОПТОЗА В ПЕРИФЕРИЧЕСКОМ ЦИТОТРОФОБЛАСТЕ ПЛАЦЕНТЫ**  
**В.Н. Костюк**

*Івано-Франківський національний медичний університет*

**EFFECT OF IRON DEFICIENCY ANEMIA IN PREGNANT WOMEN IN THE SYNTHETIC FUNCTION AND ACTIVITY OF APOPTOSIS IN PERIPHERAL PLACENTAL CYTOTROPHOBLAST**  
**V.M. Kostyuk**

*Ivano-Frankivsk National Medical University*

**Резюме.** Проведено морфологічне дослідження плацент у 90 вагітних із залізодефіцитною анемією різних ступенів важкості та 30 випадків без анемії, що склали контрольну групу. Формування груп досліджуваних плацент проводилося з використанням Міжнародної класифікації хвороб X-го перегляду, заснованої за рекомендаціями ВООЗ (1998), в залежності від вираженості анемії: I ст. – Hb 110-91 г/л, II ст. – Hb 90-71 г/л, III ст. – Hb 70-51 г/л. У досліджувані групи не включали випадки із запаленням у плаценті або з маніфестацією інфекційного процесу вагітної, випадки з цукровим діабетом у матері, ізоімунним конфліктом, аномаліями розвитку посліду (екстрахоріальні, з аномаліями пуповини чи оболонки, багаточасточкові плаценти), багатоплідною вагітністю, вадами розвитку плода. Результати імуногістохімічного дослідження показали, що залізодефіцитна анемія вагітних супроводжується зниженням концентрації плацентарного лактогену в цитоплазмі клітин периферійного цитотрофобласта різних локалізацій та призводить до посилення процесів апоптозу тільки при залізодефіцитній анемії III-го ступеня.

**Ключові слова:** плацента, залізодефіцитна анемія, апоптоз, плацентарний лактоген.

**Резюме.** Проведено морфологическое исследование плацент у 90 беременных с железодефицитной анемией разной степени тяжести и 30 случаев без анемии, составивших контрольную группу. Формирование групп исследуемых плацент проводилось с использованием Международной классификации болезней X-го пересмотра, основанной за рекомендациями ВООЗ (1998), в зависимости от выраженности анемии: I ст. - Hb 110-91 г/л, II ст. - Hb 90-71 г/л, III ст. - Hb 70-51 г/л. В исследуемые группы не включали случаи с воспалением в плаценте или манифестацией инфекционного процесса беременной, случаи с сахарным диабетом у матери, изоиммунным конфликтом, аномалиями развития последа (экстрахориальный, с аномалиями пуповины или оболочек, многодольчатые плаценты), многоплодной беременностью, пороками развития плода. Результаты иммуногистохимического исследования показали, что железодефицитная анемия беременных сопровождается снижением концентрации плацентарного лактогена в цитоплазме клеток периферического цитотрофобласта различных локализаций и ведет к усилению процессов апоптоза только при железодефицитной анемии III-й степени.

**Ключевые слова:** плацента, железодефицитная анемия, апоптоз, плацентарный лактоген.

**Summary:** A morphological study of placentas of 90 pregnant women with iron deficiency anemia of various degrees of severity, and 30 cases without anemia in the control group was conducted. Formation of the groups of studied placentas was conducted using the International classification of diseases, X-revision, based on the recommendations of the WHO (1998), depending on the severity of anemia: I st. - Hb 110-91 g/l, II st. - Hb 90-71 g/l, III st. - Hb 70-51 g/l. The study group did not include cases with inflammation in the placenta or the manifestation of infection during pregnancy, cases of diabetes in the mother, isoimmune conflict, abnormalities of the litter (extrahorial, with anomalies of the umbilical cord or membranes, placenta multiparticle), multiple pregnancy, fetal malformations. The results of immunohistochemical studies have shown that iron deficiency anemia of pregnant women is accompanied by a decreased placental lactogen concentration in the cytoplasm of peripheral cytotrophoblast of different locations and leads to increased apoptosis only in iron deficiency anemia of III degree.

**Keywords:** placenta, iron deficiency anemia, apoptosis, placental lactogen.

**Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень.** Залізодефіцитна анемія вагітних (ЗДАВ) залишається актуальною проблемою акушерства та гінекології, характеризуючись високою частотою захворюваності, яка становить від 28,4% до 83,1% [1, 2], сприяючи розвитку ускладнень як у матері, так і дитини [3, 4]. ЗДАВ приводить до порушення газообмінної, трофічної, видільної, захисної, імунологічної та ендокринної функцій, супроводжуючись розвитком морфологічних та функціональних змін у тканині плаценти та периферійному цитотрофобласті зокрема, перешкоджаючи фізіологічному перебігу вагітності і пологів, нормальному розвитку і росту плода [5]. У роботах вітчизняних та зарубіжних науковців висвітлено результати дослідження плаценти при пізніх гестозах [6], народженні дітей від матерів із акушерською, екстрагенітальною та інфекційно-запальною патологією [7], антенатальній гіпоксії плода [8]. Вивчен-

ню гормональної активності та дослідженню процесів апоптозу у тканині плаценти присвячено ряд робіт професора І.С. Давиденка [9, 10]. Разом з тим, на даний час не знайдено жодних даних відносно гормональної функції та перебігу процесів апоптозу в структурах периферійного цитотрофобласта плаценти на фоні залізодефіцитної анемії вагітних.

**Матеріали і методи**

У роботі використані імуногістохімічні методи дослідження для визначення концентрації плацентарного лактогену та апоптотичних білків в структурах периферійного цитотрофобласта. Отримані результати проаналізовані за правилами варіаційної статистики.

Для вирішення поставлених у роботі завдань проведено морфологічне дослідження плацент, клініко-статистичний аналіз перебігу вагітності, пологів, стану новонародженого

у 90 вагітних із ЗДАВ різних ступенів важкості та 30 випадків без ЗДАВ, що склали контрольну групу. В досліджувані групи не включали випадки із запаленням у плаценті або з маніфестацією будь-якої інфекції у вагітної, випадки з цукровим діабетом у матері, ізомунним конфліктом, аномаліями розвитку посліду (екстрахоріальні, з аномаліями пуповини чи оболонок, багаточасточкові плаценти), багатоплідною вагітністю, вадами розвитку плода. Діагноз залізодефіцитної анемії встановлювався за показниками вмісту гемоглобіну, кількості еритроцитів, кольорового показника, гематокриту, рівня сироваткового заліза. Формування груп досліджуваних плацент проводилося з використанням Міжнародної класифікації хвороб X-го перегляду, заснованої за рекомендаціями ВООЗ (1998), залежно від вираженості анемії: I ст. – Hb 110-91 г/л, II ст. – Hb 90-71 г/л, III ст. – Hb 70-51 г/л, IV ст. – 50 г/л і менше.

Досліджувані групи склали вагітні з однаковими протоколами лікування залізодефіцитної анемії (відрізнялося тільки дозування лікарських середників), максимально подібним соціальним статусом, родом занять, місцем проживання по відношенню до промислових підприємств із шкідливими викидами.

При постановці імуногістохімічної методики для визначення концентрації плацентарного лактогену та рівня процесів апоптозу в структурах периферійного цитотрофобласта, вирізані шматочки плаценти фіксували впродовж 22-х годин у нейтральному забуференому 10% водному розчині формаліну, після чого їх зневоднювали у висхідній багаторівневій заливці в парафін. Зрізи, товщиною 5 мкм, монтували на спеціальні неімунотоксичні предметні скельця SuperFrost®Plus (Німеччина). Далі диференційовано в залежності від вимог конкретної методики, ставили імуногістохімічну реакцію з первинними моноклональними антитілами виробників Dako Cytomation (Данія, США) проти плацентарного лактогену та їх візуалізацією стрептавідин-біотиновим методом із використанням діамінобензидину та дофарбовуванням клітинних ядер гемалауном Майєра. Для дослідження процесів апоптозу після депарафінізації зрізів та проведення послідовних етапів біотинового і пероксидазного блоку (для нейтралізації ендogenous біотину та пероксидази) імуногістохімічно визначали антигени Vcl-2 та Вах за допомогою первинних моноклональних антитіл до цих протеїнів та стрептавідин-біотинової системи візуалізації LSAB2 (пероксидазна мітка + діамінобензидин) виробника Dako Cytomation (Данія, США). Дофарбування ядер здійснювали за допомогою гематоксиліну Майєра. Для кількісного дослідження інтенсивності зафарбування цитоплазми отримували цифрові копії оптичного зображення периферійного цитотрофобласта при використанні об'єктива мікроскопа x40. Цифрові копії зображення аналізували за допомогою комп'ютерної програми "Color Pic". Аналіз здійснювався на підставі зондових вимірювань (площа круглого зонда 4 мкм<sup>2</sup>) інтенсивності забарвлення з отриманням величин показника "середня оптична щільність" (у відносних одиницях).

### Результати та їх обговорення

Аналізуючи концентрацію плацентарного лактогену в цитоплазмі периферійного цитотрофобласта виявлено, що залізодефіцитна анемія (особливо II-го та III-го ступенів) вірогідно ( $p < 0,05$ ) впливає лише на клітини ПЦТ у смузі фібриноїда Рора базальної пластинки. Концентрація

**Таблиця 1. Результати комп'ютерної денситометрії (вимірювання у відносних одиницях оптичної щільності) забарвлення цитоплазми клітин периферійного цитотрофобласта з використанням імуногістохімічної методики на плацентарний лактоген (середня арифметична  $\pm$  похибка середньої арифметичної)**

Локалізація клітин периферійного цитотрофобласта	Фізіологічна вагітність (n=35)	Залізодефіцитна анемія I ст. (n=35)	Залізодефіцитна анемія II ст. (n=30)	Залізодефіцитна анемія III ст. (n=30)
Інтеркотиледонні септи	0,232 $\pm 0,0024$	0,230 $\pm 0,0014$	0,196 $\pm 0,0018$ Pф<0,001 PI<0,001	0,191 $\pm 0,0019$ Pф<0,001 PI<0,001
Клітинні острівці	0,142 $\pm 0,0018$	0,143 $\pm 0,0016$	0,140 $\pm 0,0014$	0,140 $\pm 0,0011$
Інтрамуральний ендovasкулярний трофобласт базальної пластинки	0,240 $\pm 0,0032$	0,242 $\pm 0,0034$	0,206 $\pm 0,0036$ Pф<0,001 PI<0,001	0,197 $\pm 0,0028$ Pф<0,001 PI<0,001 PII<0,05
Внутрішньоартеріальний ендovasкулярний трофобласт базальної пластинки	0,291 $\pm 0,0026$	0,275 $\pm 0,0029$ Pф<0,05	0,271 $\pm 0,0028$ Pф<0,001	0,270 $\pm 0,0033$ Pф<0,001
Смуга фібриноїду Рора	0,238 $\pm 0,0022$	0,237 $\pm 0,0025$	0,207 $\pm 0,0023$ Pф<0,001 PI<0,001	0,208 $\pm 0,0021$ Pф<0,001 PI<0,001
Смуга фібриноїду Нітабуха	0,138 $\pm 0,0029$	0,136 $\pm 0,0027$	0,139 $\pm 0,0028$	0,136 $\pm 0,0031$
Багатоядерні трофобластичні велетенські клітини	0,134 $\pm 0,0015$	0,132 $\pm 0,0013$	0,135 $\pm 0,0018$	0,132 $\pm 0,0016$
Дрібні веретеноподібні трофобластичні клітини	0,147 $\pm 0,0022$	0,147 $\pm 0,0020$	0,147 $\pm 0,0021$	0,146 $\pm 0,0027$

Примітка. Розбіжності між групами дослідження обраховані за методом множинних порівнянь Ньюмена-Кейлса. Pф, PI, PII, - величини вірогідності розбіжності з групами «Фізіологічна вагітність», анемія I-го та II-го ступеня відповідно

плацентарного лактогену в клітинах смуги фібриноїда Нітабуха, гігантських багатоядерних клітинах та дрібних веретеноподібних клітинах базальної пластинки незначно знижується тільки при анемії III-го ступеня (табл. 1).

Наступним оцінювалася концентрація протеїнів Вах та Vcl-2. Показник концентрації протопоптического протеїну Вах проявив високу інформативність для виявлення анемії III-го ступеня. У всіх типах клітин ПЦТ, за виключенням клітин в складі клітинних острівців, концентрація протеїну Вах була вищою лише при анемії III-го ступеня у порівнянні з фізіологічною вагітністю, а також меншими ступенями важкості залізодефіцитної анемії (табл. 2).

За даними дисперсійного аналізу та методу Снедекора встановлено, що залізодефіцитна анемія вагітних вірогідно ( $p < 0,05$ ) впливає на концентрацію протеїну Вах у цитоплазмі клітин ПЦТ інтеркотиледонних септ із силою 29,6%, клітин ПЦТ клітинних острівців – 37,4%, інтрамурального ендovasкулярного трофобласта базальної пластинки – 36,5%, внутрішньоартеріального ендovasкулярного трофобласта базальної пластинки – 30,0%, клітин ПЦТ у смузі фібриноїда Рора базальної пластинки – 28,7%, клітин ПЦТ у смузі фібриноїда Нітабуха базальної пластинки – 28,8%, багатоядерних трофобластичних велетенських клітин базальної пластинки – 38,4%, дрібних веретеноподібних трофобластичних клітин базальної пластинки – 43,8%.

У рамках вищевказаного гіпотетичного механізму підсиленого відмирання периферійного цитотрофобласта цілком вписуються виявлені особливості щодо концентрації у цитоплазмі прямого цитоплазматичного антагоніста протеїну Вах – онкопротеїну Vcl-2. Зокрема, встановлено, що позитивне забарвлення при постановці імуногістохімічної методики на протеїн Vcl-2 мав місце тільки у двох типах

**Таблиця 2. Результати комп'ютерної денситометрії (вимірювання у відносних одиницях оптичної щільності) забарвлення цитоплазми клітин периферійного цитотрофобласта з використанням імуногістохімічної методики на протейн ВаХ (середня арифметична ± похибка середньої арифметичної)**

Локалізація клітин периферійного цитотрофобласта	Фізіологічна вагітність (n=30)	Залізодефіцитна анемія I ст. (n=30)	Залізодефіцитна анемія II ст. (n=30)	Залізодефіцитна анемія III ст. (n=30)
Інтеркогиледонні септи	0,191 ±0,0017	0,195 ±0,0019	0,196 ±0,0021	0,226 ±0,0024 Pф<0,001 PІ<0,001 PІІ<0,001
Інтервільозні островці	0,189 ±0,0024	0,192 ±0,0026	0,199 ±0,0029 Pф<0,01	0,229 ±0,0026 Pф<0,001 PІ<0,001 PІІ<0,001
Інтрамуральний ендovasкулярний трофобласт	0,232 ±0,0029	0,237 ±0,0034	0,238 ±0,0037	0,313±0,0034 Pф<0,001 PІ<0,001 PІІ<0,001
Внутрішньоартеріальний ендovasкулярний трофобласт	0,308 ±0,0036	0,312 ±0,0038	0,314 ±0,0040	0,375±0,0044 Pф<0,001 PІ<0,001 PІІ<0,001
Смуга фібриноїда Рора	0,195 ±0,0016	0,196 ±0,0019	0,198 ±0,0021	0,224 ±0,0024 Pф<0,001 PІ<0,001 PІІ<0,001
Смуга фібриноїда Нігабуха	0,192 ±0,0020	0,194 ±0,0022	0,195 ±0,0024	0,225 ±0,0024 Pф<0,001 PІ<0,001 PІІ<0,001
Багатоядерні трофобластичні велетенські клітини	0,188 ±0,0015	0,192 ±0,0019	0,193 ±0,0023	0,241 ±0,0022 Pф<0,001 PІ<0,001 PІІ<0,001
Дрібні веретеноподібні трофобластичні клітини	0,314 ±0,0030	0,315 ±0,0035	0,319 ±0,0038	0,378 ±0,0039 Pф<0,001 PІ<0,001 PІІ<0,001

Примітка. Розбіжності між групами дослідження обраховані за методом множинних порівнянь Ньюмена-Кейлса. Pф, PІ, PІІ, - величини вірогідності з групами «Фізіологічна вагітність», анемія I-го та II-го ступеня відповідно

клітин периферійного цитотрофобласта, причому навіть позитивне забарвлення (тобто концентрація протеїну Bcl-2) було доволі слабким (табл. 3).

**Висновки**

1. Імуногістохімічні дослідження активності периферійного цитотрофобласта щодо синтезу плацентарного лакто-

**Таблиця 3. Результати комп'ютерної денситометрії (вимірювання у відносних одиницях оптичної щільності) забарвлення цитоплазми клітин периферійного цитотрофобласта з використанням імуногістохімічної методики на протейн Bcl-2 (середня арифметична ± похибка середньої арифметичної)**

Локалізація клітин периферійного цитотрофобласта	Фізіологічна вагітність (n=30)	Залізодефіцитна анемія I ст. (n=30)	Залізодефіцитна анемія II ст. (n=30)	Залізодефіцитна анемія III ст. (n=30)
Внутрішньоартеріальний ендovasкулярний трофобласт базальної пластинки	0,191 ±0,0036	0,208 ±0,0048 Pф<0,05	0,234 ±0,0044 Pф<0,001 PІ<0,01	0,258 ±0,0052 Pф<0,001 PІ<0,001 PІІ<0,01
Дрібні веретеноподібні трофобластичні клітини базальної пластинки	0,162 ±0,0023	0,164 ±0,0028	0,160 ±0,0021	0,161 ±0,0029

Примітка. Розбіжності між групами дослідження обраховані за методом множинних порівнянь Ньюмена-Кейлса. Pф, PІ, PІІ, - величини вірогідності розбіжності з групами «Фізіологічна вагітність», анемія I-го та II-го ступеня відповідно

гену показали, що залізодефіцитна анемія вагітних впливає на концентрацію плацентарного лактогену в цитоплазмі клітин інтеркотелідонних септ, інтрамурального ендovasкулярного трофобласта, внутрішньоартеріального ендovasкулярного трофобласта та смуги фібриноїда Рора. Показники вмісту гормону в цитоплазмі клітин інших локалізацій свідчать про тенденцію до зниження концентрації в залежності від ступеня важкості залізодефіцитної анемії по відношенню до фізіологічної вагітності.

2. Денситометричні показники оптичної щільності проапоптотичного протеїну Вах та онкопротеїну Bcl-2 в цитоплазмі клітин периферійного цитотрофобласта продемонстрували, що рівень апоптотичних процесів підвищується тільки при залізодефіцитній анемії III-го ступеня.

**Перспективи подальших досліджень**

Для встановлення причинно-наслідкових зв'язків щодо зниження концентрації плацентарного лактогену та інтенсифікації процесів відмирання периферійного цитотрофобласта різної локалізації при залізодефіцитній анемії вагітних необхідно провести гістохімічне дослідження стану білків в аспекті їх окислювальної модифікації, яка закономірно зростає при анемії внаслідок підсилення утворення вільних радикалів кисню.

**Література**

1. Жабченко І.А. Стан здоров'я вагітних як показник здоров'я суспільства і держави / І.А. Жабченко // Вісник асоціації акушерів-гінекологів України. - 2000. - Т. 1, № 6. - С. 9 - 16.
2. Лукьянова Л.Д. Современные проблемы гипоксии / Л.Д. Лукьянова // Вестник Российской академии медицинских наук. - 2000. - № 1. - С. 3 - 12.
3. Артеменко Г.Я. Диагностика і лікування фетоплацентарної недостатності у вагітних з прееклампсією і анемією: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук: спец. 14.01.01 "Акушерство і гінекологія" / Г.Я. Артеменко – Харків, 1999.-16 с.
4. Давиденко І.С. Патоморфологічні аспекти формування синдрому плацентарної недостатності при залізодефіцитній анемії вагітних: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня докт. мед. наук: спец. 14.03.02 "Патологічна анатомія" / І.С. Давиденко. – К., 2006. – 35 с.
5. Глуховец Б.И. Патология послета / Глуховец Б.И., Глуховец Н.Г. - СПб: ГРААЛЬ, 2002. – 448 с.
6. Миловидова А.З. Электронномикроскопические и стереометрические характеристики плацентарного барьера при сочетании железодефицитной анемии беременных и ОПГ-гестоза / А.З. Миловидова // Буковинський медичний вісник. - 2004. - Т. 8, № 3 - 4. - С. 317 - 318.
7. Мельникова В.Ф. Инфекционные плацентиты, особенности плаценты как иммунного барьера / В.Ф. Мельникова, О.А. Аксенов // Архив патологии. – 1993. – Т. 55, № 5. – С. 78 – 81.
8. Ситнікова В.О. Коллагеноутворення в плаценті при гіпоксії плода / В.О. Ситнікова, А.І. Даниленко // Буковинський медичний вісник. - 2004. - Т. 8, № 3 - 4. - С. 324 - 325.
9. Давиденко І.С. Імуногістохимія плацентарного лактогена с помощью компьютерной микроденситометрии в синцитиотрофобласте плаценты в связи с железодефицитной анемией беременных / И.С. Давиденко, Т.Д. Задорожная // Здоровье женщины. – 2005. - № 2 (22). – С. 35 – 38.
10. Давиденко І.С. Імуногістохімічний розподіл протеїнів Вах та Bcl-2 у клітинах Гофбауера плаценти при залізодефіцитній вагітності / І.С. Давиденко // Буковинський медичний вісник. – 2005. – Т. 9, № 3. – С. 88 – 91.

Одержано 11.02.2013 року.