

Є.С. Карлійчук, І.С. Давиденко, О.О. Карлійчук

## Особливості динаміки вмісту деяких гормонів і білків зони вагітності у трофобласті ворсинчастого хоріону при викидні, що не відбувся, в I триместрі гестації

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

**Ключові слова:** хоріонічний гонадотропін, плацентарний лактоген, протеїн SP1, викидень, що не відбувся.

Імуногістологічними методами досліджено вміст хоріонічного гонадотропіну, плацентарного лактогену та білка SP1 у ворсинчастому хоріоні при викидні, що не відбувся, в терміні 5–6 (n=54) і 7–8 (n=59) тижнів вагітності (основна група) та 60 хоріонів у жінок з артифікаційним абортom у терміні 5–6 (n=30) і 7–8 (n=30) тижнів вагітності (контрольна група). При викидні, що не відбувся, через певні проміжки часу в цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок знижується концентрація хоріонічного гонадотропіну, плацентарного лактогену та білка SP1. Найбільш рано знижується концентрація білка SP1 (відзначається вже при різниці 1–4 тижні між гестаційним терміном і даними УЗД) з подальшим зниженням показників із залишенням плідного яйця у матці. При різниці 5–8 тижнів між гестаційним терміном і даними УЗД приєднуються також явища зниження концентрації хоріонічного гонадотропіну та плацентарного лактогену, що з часом посилюються.

### Особенности динамики содержания некоторых гормонов и белков зоны беременности в трофобласте ворсинчастого хориона при несостоявшемся выкидыше в I триместре гестации

Е.С. Карлійчук, І.С. Давиденко, А.А. Карлійчук

Імуногістохімічними методами досліджено содержание хорионического гонадотропина, плацентарного лактогена и белка SP1 в ворсинчатом хорионе при несостоявшемся выкидыше в сроке 5–6 (n=54) и 7–8 (n=59) недель беременности (основная группа) и 60 хорионов у женщин с артификационным абортom в сроке 5–6 (n=30) и 7–8 (n=30) недель беременности (контрольная группа). При несостоявшемся выкидыше через определенные промежутки времени в цитоплазме трофобласта хориальных ворсинок снижается концентрация хорионического гонадотропина, плацентарного лактогена и белка SP1. Наиболее рано снижается концентрация белка SP1 (это отмечается уже при разнице 1–4 недели между гестационным сроком и данными УЗИ) с дальнейшим снижением показателей по мере пребывания плодного яйца в матке. При разнице 5–8 недель между гестационным сроком и данными УЗИ присоединяются также явления снижения концентрации хорионического гонадотропина и плацентарного лактогена, которые со временем усиливаются.

**Ключевые слова:** хорионический гонадотропин, плацентарный лактоген, протеин SP1, несостоявшийся выкидыш.

**Патология.** – 2011. – Т.8., №1. – С. 64–68

### Dynamics features of maintenance of some hormones and proteins of pregnancy zone in chorion cilia in case of incomplete abortion at the I-st trimester of gestation

Ye.S. Karlyichuk, I.S. Davidenko, O.O. Karlyichuk

The levels of chorionic gonadotropin, placental lactogen, protein SP1 have been studied by immunohistochemical methods in the chorion of incomplete abortion in the term 5-6 (n=54) and 7-8 (n=59) weeks of pregnancy (the main group), and 60 chorions of women with artificial abortion in the term 5-6 (n=30) and 7-8 (n=30) weeks of gestation (control group). In case of incomplete abortion lowering of chorionic gonadotropin concentration in the chorion membrane is observed through the certain time intervals. Most early the concentration of protein SP1 is lowering (it is marked at the difference of 1-4 weeks between the gestational term and ultrasound data) with the further lowering of indexes as far as a stay of fetus in the uterus. At the difference 5-8 weeks between the gestational term and ultrasound data the phenomenon of the lowering of chorionic gonadotropin concentration and placental lactogen concentration are added, which increases in course of time.

**Key words:** chorionic gonadotropin, placental lactogen, protein SP1, incomplete abortion.

**Pathologia.** 2011; 8(1): 64–68

Невиношування вагітності – одна з провідних проблем у сучасному акушерстві. Серед клінічно діагностованих вагітностей його частота сягає 20–25%, причому на період I триместру припадає від 50 до 80% втрат. Найбільш часто втрати вагітності ранніх термінів зумовлені вагітністю, що не розвивається (від 45 до 88,6% випадків, за даними різних авторів). Зупинка розвитку ембріона в середньому відбувається при терміні вагітності 6–8 тижнів. Клінічні ж ознаки вагітності, що не розвивається, частіше за все проявляються через 2–6 тижнів після припинення її розвитку. В більшості випадків це пов'язано з тимчасовим збереженням життєздатності трофобласта після загибелі ембріону.

Для діагностики домінуючої причини вагітності, що не розвивається, важливою є оцінка вторинних змін ворсин хоріону, що після загибелі ембріона тривалий час залишається єдиним «свідком» подальших подій у хоріальному мішку та ендометрії, що його оточує [1].

#### Мета роботи

Установити особливості динаміки вмісту деяких репродуктивних гормонів і білків зони вагітності у трофобласті ворсинчастого хоріону при викидні, що не відбувся.

#### Матеріали і методи дослідження

Морфологічно досліджено 113 ворсинчастих хоріонів у жінок з викиднем, що не відбувся, в терміні 5–6 (n=54)

і 7–8 (n=59) тижнів вагітності (основна група) та 60 хоріонів у жінок з артифікаційним абортom у терміні 5–6 (n=30) і 7–8 (n=30) тижнів вагітності (контрольна група). За віком, соціальною зайнятістю та місцем проживання групи дослідження репрезентативні. В анамнезі мимовільні викидні відзначено у 34 (26,64%) жінок основної групи. Штучні аборти – у 32 (28,3%) жінок. Викидень, що не відбувся, в анамнезі траплявся у 3 (2,65%) жінок. Перинатальні втрати в анамнезі – у 2 (1,76%) жінок досліджуваної групи. При з'ясуванні анамнезу звертали увагу на наявність гінекологічних захворювань: у жінок з викиднем, що не відбувся, вони мали місце в 26,54% випадків (порушення оваріально-менструального циклу – у 17 (15,04%), запальні захворювання – у 13 (11,5%) осіб). Імуногістохімічними методами згідно оптичної щільності (комп'ютерна мікроденситометрія) специфічного забарвлення вивчено концентрацію гормонів: хоріонічного гонадотропіну та плацентарного лактогену, а також специфічного білка SP1 в хоріоні при викидні, що не відбувся.

Для збереження цілісності антигенів матеріал фіксували протягом 20–22 годин у 10% розчині нейтрального забуференого формаліну, після чого проводили прискорене зневоднювання у висхідній батареї спиртів, заливали у парафін при температурі 56°C.

На депарафінованих гістологічних зрізах 5 мкм за-

втовшки ставили імуногістохімічні реакції з первинними антитілами виробника DakoCytomation (Denmark-USA) на гормони плаценти – хоріонічний гонадотропін, плацентарний лактоген, а також на білок вагітності (SP1), згідно інструкцій виробника та відповідних рекомендацій [4]. Використовували візуалізацію первинних антитіл стрептавідин-біотиновим методом з використанням діамінобензидину. За необхідності виконували дофарбовування ядер гематоксиліном Майєра [7].

Для об'єктивізації кількісних досліджень проводили комп'ютерну мікроденситометрію ділянок забарвлення в імуногістохімічних препаратах за цифровими копіями оптичних зображень, для чого використано ліцензійну копію комп'ютерної програми «Видеотест – Размер 5.0» (ООО Видеотест, Россия).

#### Результати та їх обговорення

У гістологічних препаратах, згідно застосованої класифікації вільозних утворень хоріального дерева [2], виявляли мезенхімальні, ембріональні, стовбурові «ранні» та проміжні незрілі ворсинки, а також трофобластичні й вільозні відростки, що, відповідно сучасних уявлень, є джерелом утворення нових ворсинок [5]. У всіх зазначених вільозних утвореннях трофобласт позитивно забарвлювався діамінобензидином при застосуванні відповідних імуногістохімічних методик. Однак менш інтенсивно забарвлювався трофобласт трофобластичних

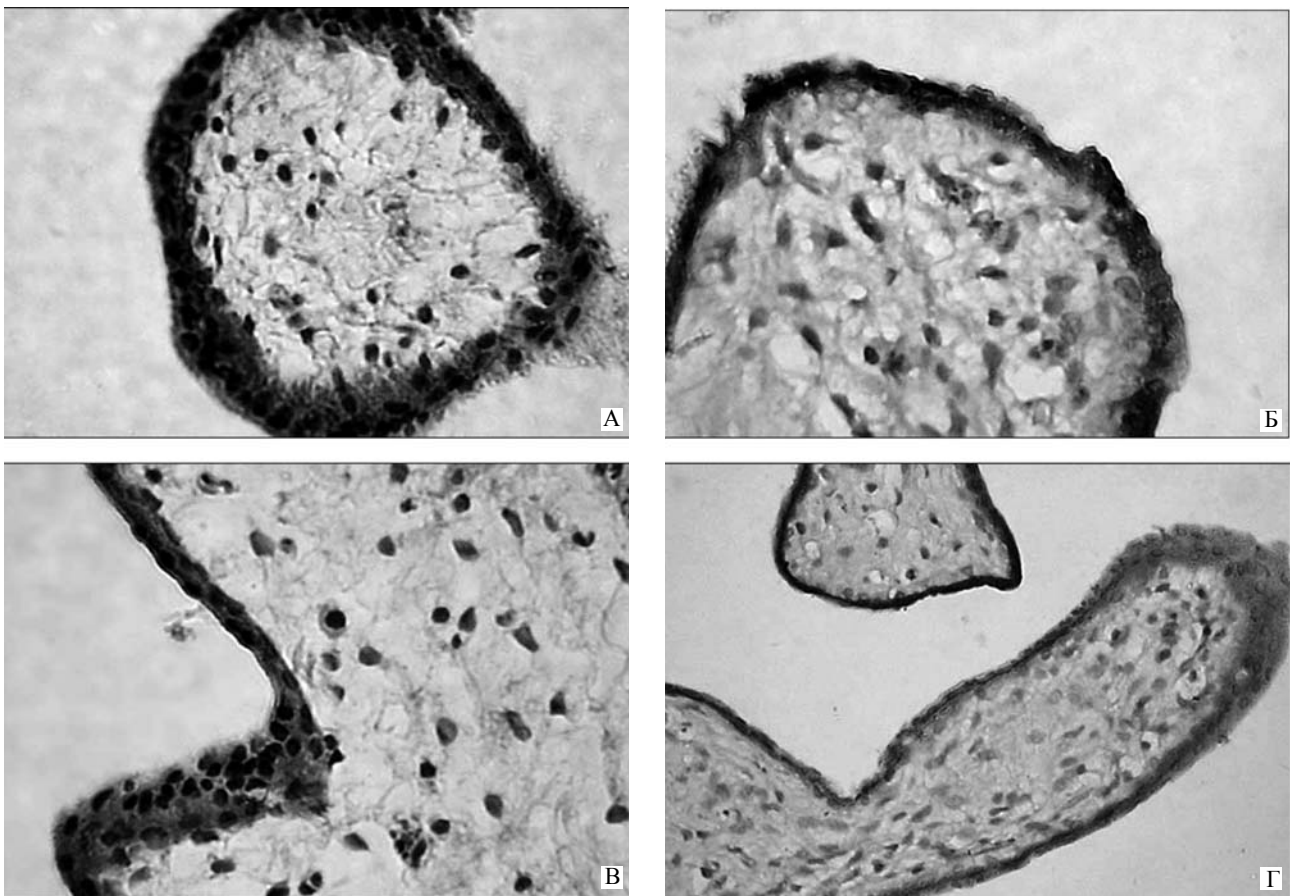
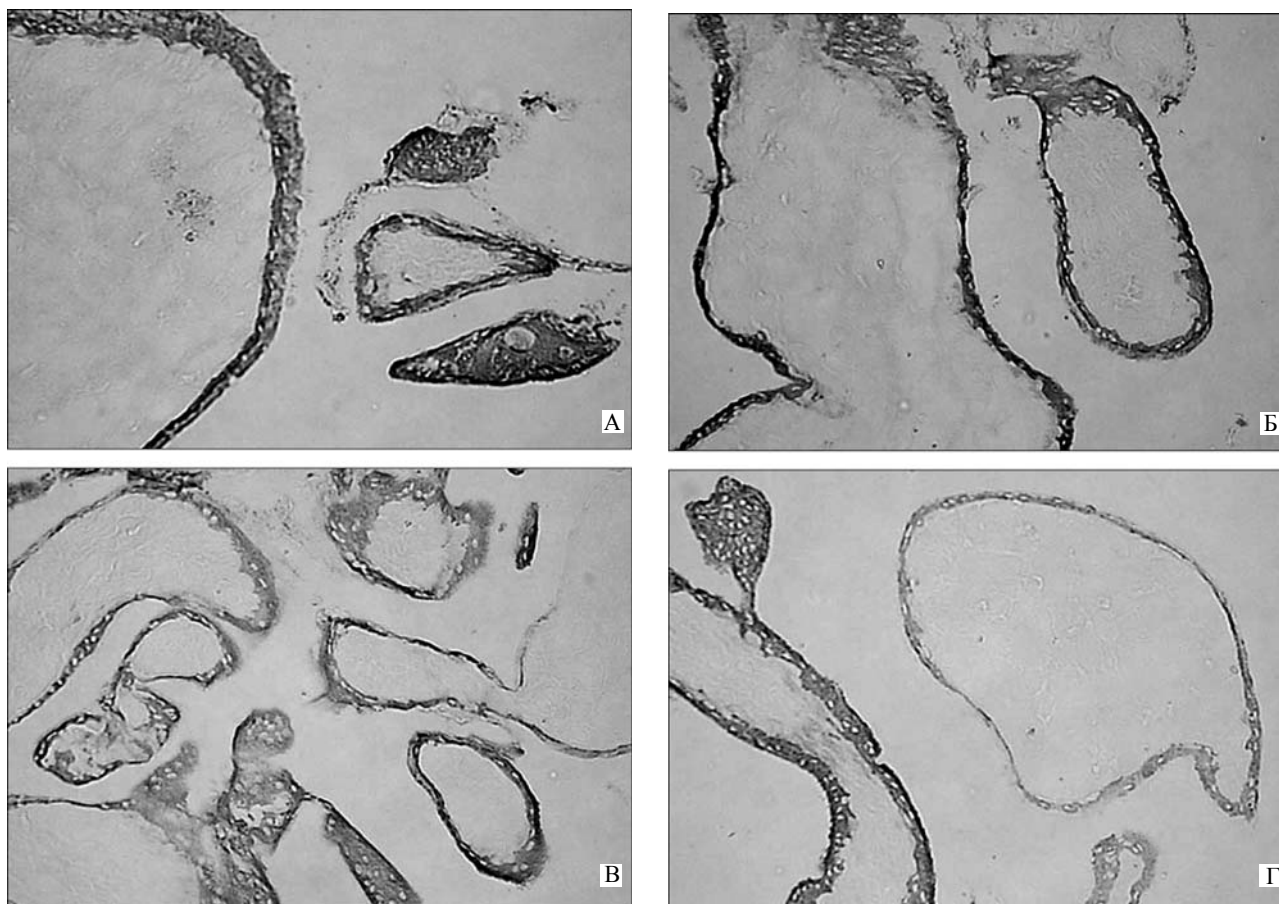


Рис. 1. Викидні, що не відбулись. Імуногістохімічна методика на хоріонічний гонадотропін. Візуалізація первинних антитіл стрептавідин-біотиновим методом з використанням діамінобензидину. Дофарбовування клітинних ядер гематоксиліном Майєра. Об. 40 $\times$ . Ок. 10 $\times$ . А) 8 тижнів гестації (за даними УЗД, 8 тижнів); Б) 9 тижнів гестації (за даними УЗД, 7 тижнів); В) 13 тижнів гестації (за даними УЗД, 7 тижнів); Г) 18 тижнів гестації (за даними УЗД, 8 тижнів).

**Оптична щільність специфічного забарвлення на хоріонічний гонадотропін, плацентарний лактоген, протеїн SP1 у трофобласті ворсинчастого хоріону при викидні, що не відбувся**

Групи дослідження		Показники		
		Оптична щільність забарвлення на хоріонічний гонадотропін у трофобласті	Оптична щільність забарвлення на плацентарний лактоген у трофобласті	Оптична щільність забарвлення на SP1 у трофобласті
Контроль (n=60)		0,346±0,0113	0,279±0,0122	0,308±0,0127
Основна (n=113)	0 т. (n=20)	0,345±0,0165	0,274±0,0164	0,289±0,0168
	1–4 т. (n=52)	0,340±0,0123	0,270±0,0125	0,245±0,0131 Рк=0,008 Рр=0,041
	5–8 т. (n=34)	0,241±0,0168 Рк<0,001 Рр=0,003	0,201±0,0152 Рк<0,001 Рр=0,008	0,202±0,0167 Рк<0,001 Рр=0,044
	9–11 т. (n=7)	0,114±0,0195 Рк<0,001 Рр<0,001	0,116±0,0188 Рк<0,001 Рр=0,008	0,146±0,0169 Рк<0,001 Рр=0,022

*Примітки:* в основній групі здійснено розподіл на підгрупи за різницею між гестаційним терміном і даними УЗД; оптичну щільність вимірювали в умовних одиницях оптичної щільності (з діапазоном 0–1); Рк – вірогідність розбіжності з групою контролю, Рр – вірогідність розбіжності з попереднім терміном дослідження; за відсутності вірогідної розбіжності (P>0,05) величину Р не зазначено.



*Рис. 2.* Викидні, що не відбулись. Імуногістохімічна методика на плацентарний лактоген. Візуалізація первинних антитіл стрептавідин-біотиновим методом з використанням діамінобензидину. Без дофарбовування клітинних ядер. Об. 20<sup>х</sup>. Ок.10<sup>х</sup>.  
 А) 8 тижнів гестації (за даними УЗД, 8 тижнів); Б) 9 тижнів гестації (за даними УЗД, 7 тижнів);  
 В) 13 тижнів гестації (за даними УЗД, 7 тижнів); Г) 18 тижнів гестації (за даними УЗД, 8 тижнів).

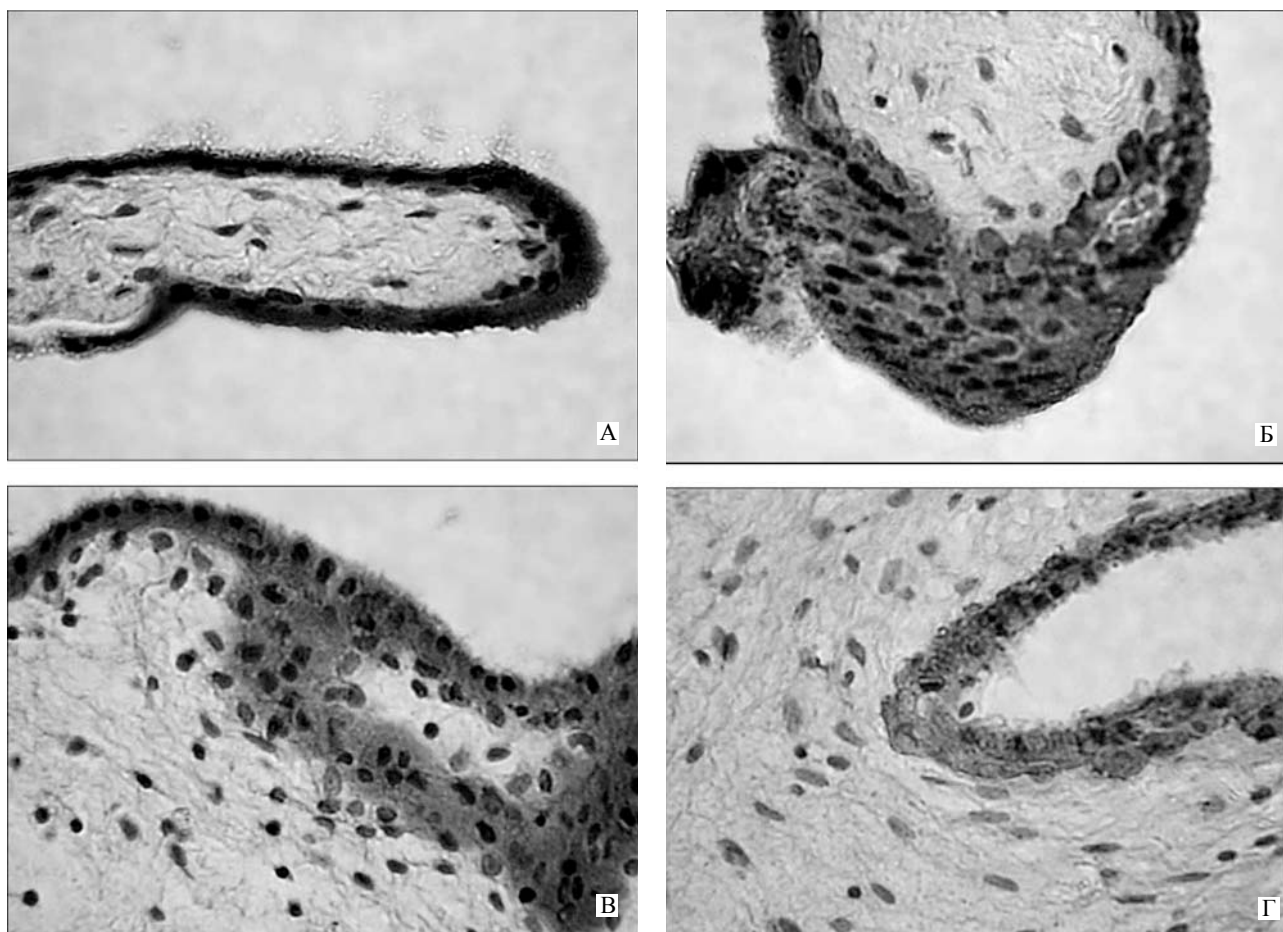


Рис. 3. Викидні, що не відбулись. Імуногістохімічна методика на протеїн SP1. Візуалізація первинних антитіл стрептавідин-біотиновим методом з використанням діамінобензидину. Дофарбовування клітинних ядер гематоксилином Майєра. Об.40 $\times$ . Ок.10 $\times$ .

А) 8 тижнів гестації (за даними УЗД, 8 тижнів); Б) 9 тижнів гестації (за даними УЗД, 7 тижнів);

В) 13 тижнів гестації (за даними УЗД, 7 тижнів); Г) 18 тижнів гестації (за даними УЗД, 8 тижнів).

і вільозних відростків, що, на нашу думку, підтверджує їх значення, тому епітелій цих утворень у поданій роботі не досліджували. Трофобласт зазначених типів хоріальних ворсинок забарвлювався з приблизно однаковою інтенсивністю відповідно до застосованої методики.

Результати вимірювання оптичної щільності специфічного забарвлення наведено в таблиці 1, з якої видно, що найсильніше позитивне забарвлення спостережено у трофобласті хоріальних ворсинок з використанням первинних антитіл проти хоріонічного гонадотропіну (рис. 1), трохи менше – при застосуванні первинних антитіл проти білка SP1 (рис. 3), а найслабше – з первинним анти-тілами проти плацентарного лактогену (рис. 2). Отримані дані відповідають сучасним уявленням про рівні цих типів молекул у I триместрі вагітності [5]. Отже, є підстави вважати, що оптична щільність специфічного забарвлення на зазначені антигени віддзеркалює вміст (концентрацію) хоріонічного гонадотропіну, плацентарного лактогену й білка SP1 в цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок.

Для динаміки змін концентрації хоріонічного гонадотропіну, плацентарного лактогену та білка SP1 в цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок виявлено такі

закономірності. Концентрація обох вивчених гормонів статистично значуще зменшена відносно контролю лише при різниці між гестаційним терміном і даними УЗД не менше 5 тижнів, причому при різниці 9–11 тижнів вона стає більш ніж удвічі меншою, порівняно з відповідними даними 5–8 тижнів (рис. 1, 2).

Однак концентрація білка SP1 у середньому є нижчою, у порівнянні з контролем, вже при різниці 1–4 тижні, а зниження стає суттєвішим з її подальшим наростанням (рис. 3).

#### Висновок

При викидні, що не відбувся, через певні проміжки часу в цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок знижується концентрація хоріонічного гонадотропіну, плацентарного лактогену й білка SP1. Найбільш рано знижується концентрація білка SP1 (спостережено вже при різниці 1–4 тижні між гестаційним терміном і даними УЗД) з подальшим зниженням показників із залишенням плідного яйця у матці. При різниці 5–8 тижнів між гестаційним терміном і даними УЗД приєднуються також явища зниження концентрації хоріонічного гонадотропіну та плацентарного лактогену, що часом посилюються.

У подальшому, на основі вже отриманих даних, планується пояснити виявлені зміни концентрацій вивчених гормонів і білка SP1 при викидні, що не відбувся, в аспекті процесів апоптозу трофобласта хоріальних ворсинок.

#### Література

1. *Буткова О.И.* Характеристика гормонального статуса у женщин с наличием погибшего плода в матке в зависимости от срока беременности / О.И. Буткова, З.Б. Хоминская // Репродуктивное здоровье женщины. – 2003. – №1. – С. 35–37.
2. *Давиденко І.С.* Використання теорії інформації для оцінки структурної організації різних типів хоріальних ворсинок плаценти при фізіологічній вагітності / І.С. Давиденко // Вісник морфол. – 2005. – №1 (11). – С. 5–10.
3. Невынашивание беременности / [Мельникова С.Е., Гаджиева Т.С., Орлов В.М.]. – СПб, 2006. – 72 с.
4. *Эллиниди В.Н.* Практическая иммуногистоцитохимия: метод. реком. / В.Н. Эллиниди, Н.В. Аникеева, Н.А. Максимова. – СПб: ГРААЛЬ. – 2002. – 38 с.
5. *Benirschke K.* Pathology of the Human Placenta / K. Benirschke, P. Kaufmann, R.N. Baergen. – [5 rd. ed]. – NY: Springer, 2006. – 1050 p.
6. *Diedrich K.A.* The role of the endometrium and embryo in human implantation / K.A. Diedrich, B.C. Fauser, P.E. Devroey, G.T. Griesinger // Evian Annual Reproduction (EVAR) Workshop Group. Human Reprod Update. – 2007. Vol. 13(4). – P. 365–377.
7. *Venerucci F.* Histopathology kits: methods and applications / F. Venerucci. – Bologna, Milan : Bio-Optica, 2009. – 95 p.

#### Відомості про авторів:

Карлійчук Є.С., асистент каф. акушерства, гінекології та перинатології БДМУ.

Давиденко І.С., д. мед. н., професор, зав. каф. патоморфології та судової медицини БДМУ.

Карлійчук О.О., доцент каф. загальної хірургії БДМУ.

#### Адреса для листування:

Карлійчук Євгенія Сергіївна, м. Чернівці, вул. Н.-Прибоя, буд. 4, кв. 2.

Тел.: (050) 971 29 92.