

ВИВЧЕННЯ ІМУНОГІСТОХІМІЧНИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ МАТЕРИНСЬКОЇ ТА ФЕТАЛЬНОЇ ЧАСТИН ПЛАЦЕНТИ У ЖІНОК З ХРОНІЧНИМ ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТОМ І ПІДВИЩЕНИМ РІВНЕМ АНТИФОСФОЛІПІДНИХ АНТИТІЛ

Т.В. Волошина, Т.Д. Задорожна, Л.Є. Туманова, О.В. Коломієць
ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології НАМН України», м. Київ, Україна

Мета: вивчити імуногістохімічні особливості материнської та фетальної частин плаценти у вагітних з хронічним гломерулонефритом (ХГ) і підвищеним рівнем антифосфоліпідних антитіл (АФА).

Пацієнти та методи. Досліджено такі групи: 1-а — плаценти жінок із фізіологічним перебігом вагітності, III триместр (контроль) — 20 досліджень; 2-а — плаценти жінок із ХГ — 16 досліджень; підгрупа 2а — рівень АФА до 9 ОД — 6 досліджень; підгрупа 2б — рівень АФА понад 9 ОД — 10 досліджень. Для вивчення змін у плаценті у жінок з ХГ використано імуногістохімічні методи: 1) непрямий стрептавідин-пероксидазний метод виявлення мезенхімальних структур методом АВС; 2) непрямий стрептавідин-пероксидазний метод виявлення експресії колагену I типу; 3) непрямий стрептавідин-пероксидазний метод виявлення експресії колагену III типу.

Результати. Встановлено високу інтенсивність колагену III типу в стромі ворсин, інтенсивність реакції колагену I типу була слабкою та вогнищевою в стромі ворсин.

Висновки. У жінок з ХГ і підвищеним рівнем АФА імуногістохімічне дослідження мезенхімального фактора Vimentin виявило зниження рівня експресії останнього на фоні збільшення інтенсивності реакції на колаген III типу в стромі ворсин, що може пояснювати формування порушень плацентарно-плодового кровотоку.

Ключові слова: хронічний гломерулонефрит, вагітність, антифосфоліпідні антитіла, плацентарна дисфункція, імуногістохімічний метод.

Вступ

Хронічні запальні захворювання нирок (ХЗН), зокрема, хронічний гломерулонефрит (ХГ), у вагітних жінок залишаються надзвичайно важливою та гострою проблемою клініки екстрагенітальної патології [2, 5]. Незважаючи на значну кількість робіт, присвячених вивченню перебігу вагітності при ХЗН та їх впливу на плід, пологи та стан новонародженого; ще не з'ясовані питання перебігу ХГ у вагітних на фоні підвищеного рівня антифосфоліпідних антитіл (АФА).

Як відомо, синтез АФА асоціюється з різними формами акушерської патології, зокрема, з пізнім гестозом, пре-еклампсією та еклампсією, передчасними пологома. У літературі описано розвиток тромботичних ускладнень у новонароджених від матерів з антифосфоліпідним синдромом (АФС), що свідчить про можливість трансплацентарної передачі АФА.

Слід зазначити, що вагітність — це стан, який можна вважати тестом на приховану набуту або генетичну тромбофілію, оскільки сама вагітність супроводжується фізіологічною гіперкоагуляцією та сприяє реалізації прихованої тромбофілії не тільки у вигляді тромбозів і тромбофілій, але й типово акушерських ускладнень.

Наявність кількох факторів ризику у вагітних може потенціювати негативний вплив за рахунок прогресування мікроциркуляторних, метаболічних, імунологічних та інших порушень.

Мета роботи — вивчити імуногістохімічні особливості материнської та фетальної частин плаценти у вагітних з ХГ і підвищеним рівнем АФА.

Матеріали та методи

Для вивчення імуногістохімічних особливостей плаценти досліджено такі групи вагітних жінок:

- 1-а група — плаценти жінок із фізіологічним перебігом вагітності, III триместр (контроль) — 20 досліджень;
- 2-а група — плаценти жінок із ХГ — 16 досліджень:
 - підгрупа 2а — рівень АФА до 9 ОД — 6 досліджень;
 - підгрупа 2б — рівень АФА понад 9 ОД — 10 досліджень.

Для вивчення змін у плаценті в жінок з ХГ використано такі імуногістохімічні методи:

- непрямий стрептавідин-пероксидазний метод виявлення мезенхімальних структур методом АВС, за допомогою Kit моноклонального антитіла Vimentin; моноклональне антитіло Vimentin 0.15 Dreacts c 57 KD є проміжним філаментом білків і знаходиться в клітинах мезенхімального походження;
- непрямий стрептавідин-пероксидазний метод виявлення експресії колагену I типу; принцип методу базується на виявленні експресії колагену I типу за допомогою первинних і вторинних Kit моноклональних антитіл до антигену колагену I типу;
- непрямий стрептавідин-пероксидазний метод виявлення експресії колагену III типу; принцип методу базується на виявленні експресії колагену III типу за допомогою первинних і вторинних Kit моноклональних антитіл до антигену колагену III типу.

Протокол забарвлення: депарафінізація шматочків тканини на скло, блокування ендогенної пероксидази 3-процентним розчином перексиду водню, обробка пред-

Таблиця 1

Особливості експресії Vimentin у плацентах жінок з хронічним гломерулонефритом і рівнем антифосфоліпідних антитіл до 9 ОД (бали)

Група	Оцінка результатів імуногістохімічного дослідження			
	синцитій	строма	ендотелій судин	децидуальні клітини
1-а (n=20)	0	2-3	2	2-3
2-а, підгрупа 2а (n=6)	0	1-2	1	1

метного скла водою, блокування неспецифічних протеїнових сполук двома краплями 1-процентного BSA, промивання в PBS-буфері, нанесення первинних антитіл до антигену колагенів III типу (фірма DAKO, Данія) на одну годину; промивання в PBS-буфері та нанесення вторинних антитіл; промивання в PBS-буфері, нанесення двох крапель комплексу стрептавідин-пероксидази та інкубація протягом 30 хв., промивання і нанесення АЕС — хромоген-розчину — інкубація 5–20 хв., до появи червоно-коричневого забарвлення з наступним дофарбовуванням гематоксілином Майєра.

Оцінка результатів імуногістохімічної реакції проведена за допомогою методів, прийнятих в імуногістохімії, з визначенням ступеня експресії та інтенсивності реакції в балах: 0 балів — немає видимого забарвлення; 1 бал — слабе забарвлення; 2 бали — помірне забарвлення; 3 бали — виразне забарвлення; 4 бали — дуже виразне забарвлення.

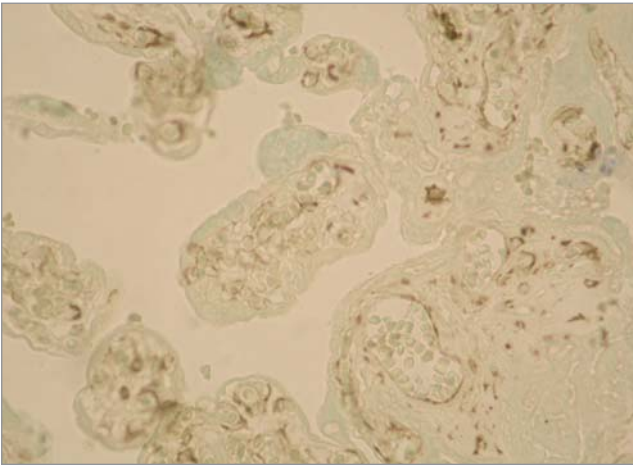


Рис. 1. Плацента жінки з хронічним гломерулонефритом і титром антифосфоліпідних антитіл до 9 ОД. Експресія мезенхімального фактора Vimentin 1 бал в ендотелії судин та 1–2 у стромі термінальних і ворсин середнього калібру. Непрямий стрептовідин-пероксидазний метод виявлення експресії Vimentin (імуногістохімічне дослідження). Мікрофотографія. Ок. 10 Об.х20.

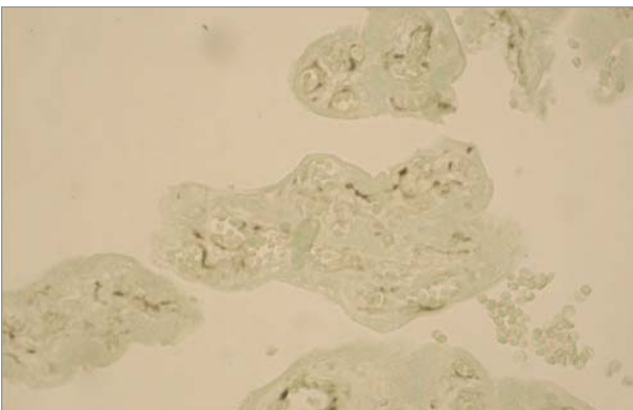


Рис. 3. Плацента жінки з хронічним гломерулонефритом і рівнем антифосфоліпідних антитіл понад 9 ОД. Експресія мезенхімального фактора Vimentin 1 бал в ендотелії судин та в стромі термінальних і ворсин середнього калібру. Непрямий стрептовідин-пероксидазний метод виявлення експресії Vimentin (імуногістохімічне дослідження). Мікрофотографія. Ок. 10 Об.х20.

Результати дослідження та їх обговорення

Імуногістохімічні особливості материнської та фетальної частин плаценти від жінок з фізіологічним перебігом вагітності та пологів (контроль).

Імуногістохімічне дослідження визначення компонентів екстрацелюлярного матриксу (колаген I, III типів) у стромі ворсин показало, що колагени I типу розташовані переважно в центральних ділянках стромы, колагени III типу — рівномірно по всій площі ворсин, а позитивна експресія Vimentin відмічена в стромі термінальних ворсин і ворсин середнього калібру, а також у децидуальних клітинах та ендотелії судин ворсин.

Імуногістохімічні особливості материнської та фетальної частин плаценти жінок з ХГ та титром АФА до 9 ОД.

Імуногістохімічне дослідження рівня експресії Vimentin виявило його зниження в стромі (1–2 бали), ендотелії судин і децидуальних клітинах (1 бал) (табл. 1, рис. 1).

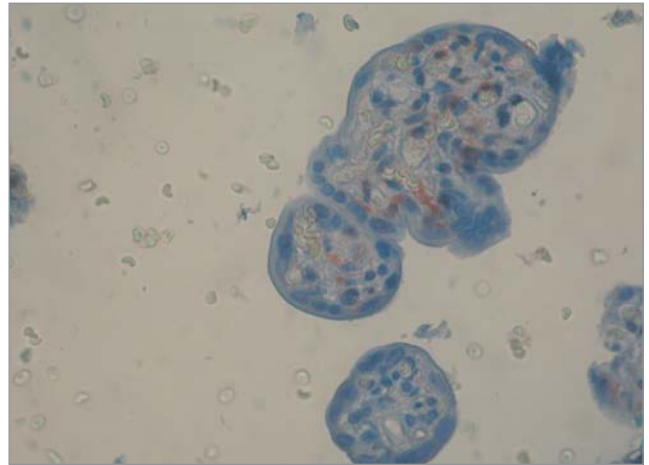


Рис. 2. Плацента жінки з хронічним гломерулонефритом у поєднанні з титром антифосфоліпідних антитіл до 9 ОД. Помірна інтенсивність реакції на колаген III типу в стромі термінальних ворсин (2 бали). Непрямий стрептовідин-пероксидазний метод виявлення інтенсивності реакції на колаген III типу (імуногістохімічне дослідження). Мікрофотографія. Ок. 10 Об.х20.

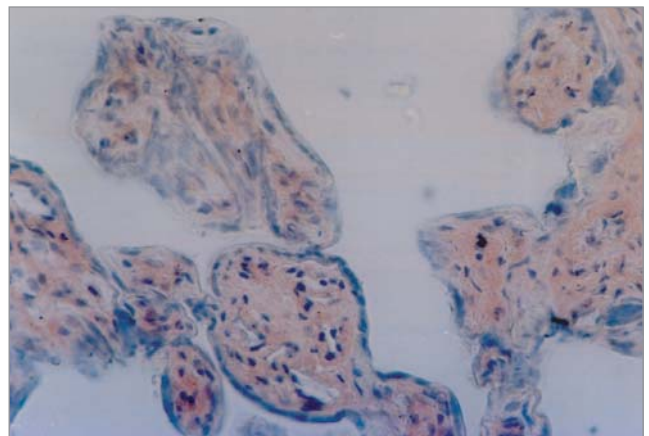


Рис. 4. Плацента жінки з хронічним гломерулонефритом і рівнем антифосфоліпідних антитіл понад 9 ОД. Інтенсивність реакції на колаген III типу в стромі середніх і термінальних ворсин (3 бали). Непрямий стрептовідин-пероксидазний метод виявлення інтенсивності реакції на колаген III типу (імуногістохімічне дослідження). Мікрофотографія. Ок. 10. Об.х20.

Таблиця 2

Особливості інтенсивності реакції на колагени I та III типу в плацентах жінок з хронічним гломерулонефритом і рівнем антифосфоліпідних антитіл до 9 ОД (бали)

Група	Оцінка результатів імуногістохімічного дослідження					
	синцитій		строма		ендотелій судин	
	колаген I типу	колаген III типу	колаген I типу	колаген III типу	колаген I типу	колаген III типу
1-а (n=20)	0	0	0,1	2	0	0
2-а, підгрупа 2а (n=6)	0	0	0	2	0	0

Таблиця 3

Особливості експресії Vimentin у плацентах жінок з хронічним гломерулонефритом і рівнем антифосфоліпідних антитіл понад 9 ОД (бали)

Група	Оцінка результатів імуногістохімічного дослідження			
	синцитій	строма	ендотелій судин	децидуальні клітини
1-а (n=20)	0	2-3	2	2-3
2-а, підгрупа 2а (n=6)	0	1-2	1	1
2-а, підгрупа 2б (n=10)	0	1	1	1

Таблиця 4

Особливості інтенсивності реакції на колагени I та III типу в плацентах жінок з хронічним гломерулонефритом та рівнем антифосфоліпідних антитіл понад 9 ОД (бали)

Група	Оцінка результатів імуногістохімічного дослідження					
	синцитій		строма		ендотелій судин	
	колаген I типу	колаген III типу	колаген I типу	колаген III типу	колаген I типу	колаген III типу
1-а (n=20)	0	0	0,1	2	0	0
2-а, підгрупа 2а (n=6)	0	0	0	2	0	0
2-а, підгрупа 2б (n=10)	0	0	0,1	3	0	0

Імуногістохімічне дослідження інтенсивності реакції на колагени I та III типів у структурах плацент цієї підгрупи вказало на помірну інтенсивність реакції колагену III типу в стромі ворсин (2 бали), слабку інтенсивність реакції колагену I типу (0-1 бал), вогнищеву – у стромі ворсин (табл. 2, рис. 2). Як видно з табл. 2, ці показники не відрізнялись від таких у контрольній групі.

Інтенсивність реакції на колаген III типу у структурах плацент цієї підгрупи була помірною в стромі ворсин (2 бали), колаген I типу не виявлено. Імуногістохімічне дослідження рівня експресії Vimentin виявило його зниження в стромі (1-2 бали), ендотелії судин і децидуальних клітинах (1 бал) порівняно з групою контролю (2-3 бали).

Імуногістохімічні особливості материнської та фетальної частин плаценти жінок з ХГ і рівнем АФА понад 9 ОД.

Імуногістохімічне дослідження рівня експресії Vimentin вказало на його зниження в стромі, ендотелії судин і децидуальних клітинах (1 бал), (табл. 3).

Імуногістохімічне дослідження інтенсивності реакції на колагени I та III типів у структурах плацент цієї підгрупи довело високу інтенсивність колагену III типу в стромі ворсин (3 бали), слабку інтенсивність реакції колагену I типу (1 бал), вогнищеву – у стромі ворсин (рис. 3, рис. 4; табл. 4).

Висновки

Таким чином, імуногістохімічне дослідження особливостей мезенхімального фактора Vimentin виявило зниження рівня експресії останнього на фоні збільшення інтенсивності реакції на колаген III типу в стромі ворсин, а це може пояснювати формування порушень плацентарно-плодового кровотоку.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гладков І.С. Імунологічні аспекти ФПК / І.С. Гладков // Буковинський медичний вісник: укр. наук.-практ. журнал. — 2001. — Т. 5, № 4. — С. 45—47.
2. Пахаренко Л.В. Гемомікроциркуляторне русло плаценти при хронічній плацентарній недостатності / Л.В. Пахаренко // Галицький лікарський вісник. — 2003. — № 1. — С. 86—87.
3. Плацентарна недостатність: сучасні аспекти патогенезу, діагностики, профілактики та лікування / В.Є. Дашкевич, С.М. Янюта, Т.В. Колодійченко [та ін.] // Мистецтво лікування. — 2004. — № 4. — С. 22—25.
4. Рогов В.А. Хронический гломерулонефрит и беременность / В.А. Рогов, Е.М. Шилов, Н.Л. Козловская // Тер. архив. — 2004. — № 9. — С. 21—26.
5. Сквівка Л.М. Імунологія репродукції (курс лекцій) / Л.М. Сквівка. — К.: НВО Поверхність, 2004. — 145с.
6. Туманова Л.Є. Функціональний стан фетоплацентарного комплексу у вагітних із хронічним гломерулонефритом та гіпотрофією плода / Л.Є. Туманова, З.Б. Хомінська, О.М. Івасечко // Перинатологія та педіатрія. — 2001. — № 4. — С. 5—10.
7. Hill J.A. Immunohistochemical studies of human uteroplacental tissues from first trimester spontaneous abortion / J.A. Hill, G.C. Melling, P.M. Johnson // Am. J. Obstetrics Gynecology. — 2005. — Vol. 173. — P. 90—96.
8. Menu E. Immunoreactive products of placenta. Immunoregulatory properties of a low molecular weight compound obtained from human placental cultures / E. Menu, G. Thibault, S. Ropert // Am. J. Reproductive Immunology. — 1996. — Vol. 36. — P. 11—24.

ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ МАТЕРИНСКОЙ И ФЕТАЛЬНОЙ ЧАСТИ ПЛАЦЕНТЫ У ЖЕНЩИН С ХРОНИЧЕСКИМ ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТОМ И ПОВЫШЕННЫМ УРОВНЕМ АНТИФОСФОЛИПИДНЫХ АНТИТЕЛ

Т.В. Волошина, Т.Д. Задорожная, Л.Е. Туманова, О.В. Коломиец

ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии НАМН Украины», г. Киев, Украина

Цель: изучить иммуногистохимические особенности материнской и фетальной частей плаценты у беременных с хроническим пиелонефритом (ХГ) и повышенным уровнем антифосфолипидных антител (АФА).

Пациенты и методы. Исследованы следующие группы: 1-я — плаценты женщин с физиологическим течением беременности, III триместр (контроль) — 20 исследований; 2-я — плаценты женщин с ХГ — 16 исследований: подгруппа 2а — уровень АФА до 9 ЕД — 6 исследований; подгруппа 2б — уровень АФА более 9 ЕД — 10 исследований. Для изучения изменений в плаценте у женщин с ХГ были использованы такие иммуногистохимические методы: 1) непрямой стрептавидин-пероксидазный метод выявления мезенхимальных структур методом АВС; 2) непрямой стрептавидин-пероксидазный метод выявления экспрессии коллагена I типа; 3) непрямой стрептавидин-пероксидазный метод выявления экспрессии коллагена III типа. Результаты. Выявлена высокая интенсивность коллагена III типа в строме ворсин, интенсивность реакции коллагена I типа была слабой и очаговой в строме ворсин.

Выводы: У женщин с ХГ и повышенным уровнем АФА иммуногистохимическое исследование особенностей мезенхимального фактора Vimentin выявило снижение уровня экспрессии последнего на фоне увеличения интенсивности реакции на коллаген III типа в строме ворсин, что объясняет формирование нарушений плацентарно-плодового кровообращения.

Ключевые слова: хронический гломерулонефрит, беременность, антифосфолипидные антитела, плацентарная дисфункция, иммуногистохимический метод.

THE STUDY OF IMMUNOHISTOCHEMICAL FEATURES OF MATERNAL AND FETAL PART OF PLACENTA IN WOMEN WITH CHRONIC GLOMERULONEPHRITIS AND INCREASED LEVELS OF ANTIPHOSPHOLIPID ANTIBODIES

T.V. Voloshina, T.D. Zadorozhnaia, L.E. Tumanova, O.V. Kolomiets

SI «Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology, NAMS of Ukraine», Kiev, Ukraine

Purpose of this study was to — study immunohistochemical features of maternal and fetal parts of the placenta in pregnant women with hepatitis and elevated levels of antiphospholipid antibodies (AFA).

To study the immunohistochemical features of the placenta were investigated offensive groups: first — the placenta of women with physiological pregnancy, the third trimester (control) — 20 studies, the second — the placenta of women with HG — 16 Studies: sub second — level of AFA to 9 units — 6 studies, subgroup 2-B — AFA rate of more than 9 units — 10 studies. To study changes in the placenta in women with chronic glomerulonephritis (ChG) was used immunohistochemical methods are: 1) The indirect streptavidin-peroxidase detection method mesenchymal structures by ABC, 2) indirect streptavidin-peroxidase method for detecting the expression of collagen type I and 3) indirect streptavidin-peroxidase detection method expression collagen type III.

In studying the results of the intensity of reactions to collagen types I and III in the structure of the placenta in women with elevated hCG and AFA was found high intensity type III collagen in the stroma of villi, the intensity of the reaction of collagen type I was weak and focal in the stroma of villi.

Made the following findings: women with elevated hCG and immunohistochemical study AFA mesenchymal factor Vimentin showed lower expression of the latter against the backdrop of increasing the intensity of response to type III collagen in the stroma of villi, which can explain the formation of violations of fetal-placental blood flow.

Key words: chronic glomerulonephritis, pregnancy, antiphospholipid antibodies, placental dysfunction, immunohistochemical method.

Сведения об авторах:

Волошина Татьяна Васильевна — канд. мед. н. ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии НАМН Украины».

Адрес: г. Киев, ул. Майбороды, 8. Тел. (044) 483-90-65.

Задорожная Тамара Даниловна — д-р мед. н., проф., руководитель лаборатории патоморфологии ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии НАМН Украины».

Адрес: г. Киев, ул. Майбороды, 8. Тел. (044) 483-90-65.

Туманова Лариса Евгеньевна — д-р. мед. н., проф., зав. отделения порфилактики и лечения гнойно-воспалительных заболеваний в акушерстве ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии НАМН Украины». Адрес: г. Киев, ул. Майбороды, 8. Тел. (044) 483-90-65.

Адрес: г. Киев, ул. Майбороды, 8. Тел. (044) 483-90-65.

Коломиец Елена Владимировна — канд. мед. н., ст.н. сотр. отделения порфилактики и лечения гнойно-воспалительных заболеваний в акушерстве ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии НАМН Украины». Адрес: г. Киев, ул. Майбороды, 8. Тел. (044) 483-90-65.

Статья поступила в редакцию 5.06.2013 г.