

© Бражук М.В., Кондратюк В.К., Дзісь Н.П.

УДК: 618.14:611 - 013.84:618.39 - 021.3

**Бражук М.В.<sup>1</sup>, Кондратюк В.К.<sup>1</sup>, Дзісь Н.П.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ДУ "Інститут педіатрії, акушерства і гінекології НАМН України" (вул. Майбороди, 8, м. Київ, Україна, 04050), <sup>2</sup>Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, Україна, 21018)

## ПАТОМОРФОЛОГІЧНІ ТА ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ДЕЦИДУАЛЬНОЇ ОБОЛОНКИ І ХОРІОНА У ЖІНОК З ТРУБНОЮ ВАГІТНІСТЮ

**Резюме.** Проведено гістологічне та імуногістохімічне дослідження 85 зразків оперативного матеріалу (ділянки маткових труб, плідне яйце, ділянки яєчників, вішкріб з порожнини матки), що був отриманий від жінок із трубною вагітністю. Для ектопічної нідації характерним є різке зниження проліферативних процесів в хоральній тканині, свідченням чого є зниження експресії маркера проліферації Ki-67 в ворсинках хоріона у поєднанні із різким зниженням або повною відсутністю експресії ендотеліального фактора CD31 в ендотелії судин хоріальних структур і стінці маткової труби на тлі явищ хронічного сальпінгіту, який мав місце в 75,3% випадках. Проведені дослідження засвідчили ключову роль хронічного запального процесу геніталій в патогенезі трубної вагітності.

**Ключові слова:** патоморфологія, імуногістохімія, децидуальна оболонка, хоріон, трубна вагітність.

### Вступ

Ектопічна вагітність до теперішнього часу продовжує залишатися однією з основних проблем акушерства, гінекології та репродуктології. Частота патологій становить 2-4% випадків від загальної кількості вагітностей [Адамян и др., 2008; Гуриев, Сидорова, 2007]. Слід зазначити, що в останні роки у зв'язку із зростанням частоти запальних захворювань статевих органів і зовнішнього генітального ендометріозу, відзначена чітка тенденція до збільшення випадків трубної вагітності. Трубна вагітність залишається однією з найчастіших причин материнської смертності [Адамян и др., 2008; Башмакова и др., 2011; Гуриев, Сидорова, 2007; Каушанская, 2008].

Видалення навіть однієї маткової труби в 70-80% випадках зумовлює розвиток вторинного безпліддя, ендокринних розладів, підвищує ризик (до 2-30%) виникнення ектопічної нідації блатоцисти в матковій трубі, що залишилася, також веде до розвитку спайкового процесу органів малого таза, що ще більше погіршує перспективи щодо відновлення репродуктивної функції [Власова, 2007; Гаспаров и др., 2002].

На сучасному етапі, незважаючи на безліч досліджень, проведених вітчизняними і зарубіжними авторами в області етіопатогенезу позаматкової вагітності, недостатньо вивченими і дискусійними залишаються питання патогенезу ектопічної нідації.

У літературі представлені розрізнені та суперечливі дані присвячені вивченню процесів децидуалізації та проліферації при ранніх репродуктивних втратах, а особливості цих патогенетично важливих процесів при позаматкової вагітності залишаються маловивченими [Автандилов, Купрюшина, 2007; Давыдов, Попова, 2010].

Таким чином, вивчення патоморфологічних та імуногістохімічних особливостей децидуальної оболонки і хоріона за умов трубної вагітності є важливим з точки зору уточнення патогенетичних механізмів ектопічної нідації, що і стало метою даної роботи.

### Матеріали та методи

З метою визначення морфологічних і імуногістохімічних особливостей хоріона і децидуальної тканини за умов трубної вагітності досліджено 85 зразків оперативного матеріалу, що був отриманий від жінок з даною патологією (ділянки маткових труб, плідне яйце, ділянки яєчників, вішкріб з порожнини матки). Поряд із цим, проведено дослідження 20 зразків матеріалу абортного матеріалу, що був отриманий від жінок з вагітністю, що не розвивається, що склало групу порівняння.

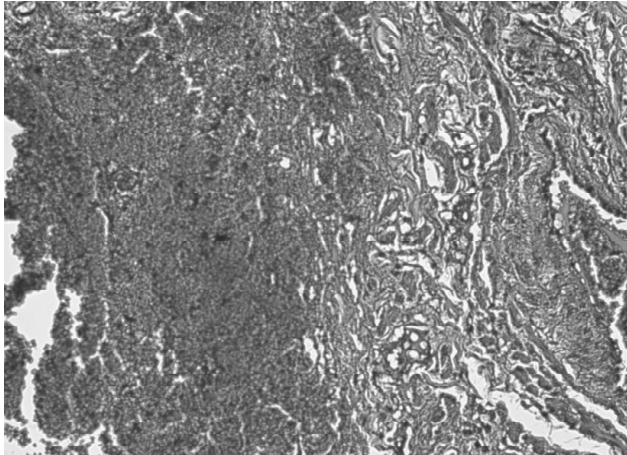
Отриманий оперативний матеріал фіксували в 10% розчині нейтрального формаліну, зневоднювали в спиртах і заливали в парафінові блоки. Мікроскопічні дослідження здійснювали за допомогою світлооптичного мікроскопа "Axioskop 40" (Німеччина).

Для досягнення поставленої мети у даному дослідженні були використані наступні методи: а) гістологічний - матеріал фіксували в парафіновій заливці, зрізи фарбували гематоксилін-еозин і пікрофуксином по Ван-Гізоном;

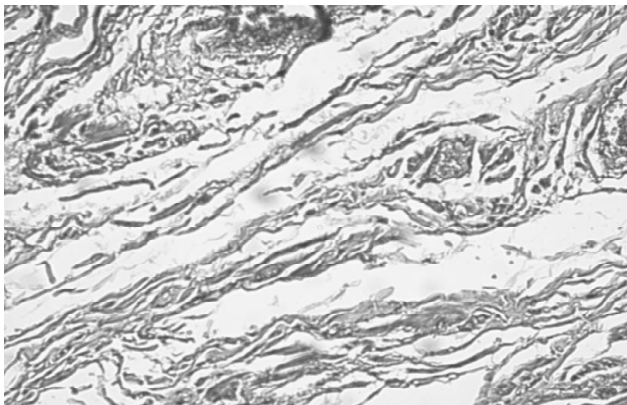
б) імуногістохімічний: непрямий стрептавідін-пероксидазний метод виявлення рівня експресії моноклональних антитіл (МКАТ) до проліферативно-регенераторного маркера Ki-67, ендотеліального фактора CD31 (PECAM-1), мезенхімального маркера хоріальних структур Vimentin (фірма DAKO, Данія). Протокол забарвлення: депарафінізація шматочків тканини на скло, блокування ендогенної пероксидази 3% розчином перекису водню, обробка предметного скла водою, блокування неспецифічних протеїнових з'єднань двома краплями 1% BSA, промивка в PBS-буфері, нанесення первинних антитіл до антигену Ki-67, CD31, Vimentin (DAKO, Данія) на одну годину. Промивка у PBS-буфері і нанесення вторинних антитіл. Промивання в PBS-буфері, нанесення двох крапель комплексу стрептавідін-пероксидази і інкубація протягом 30 хв. Промивання й нанесення АЕС-хромоген - розчину і інкубація від 5 до 20 хвилин, до появи коричневого забарвлення.

### Результати. Обговорення

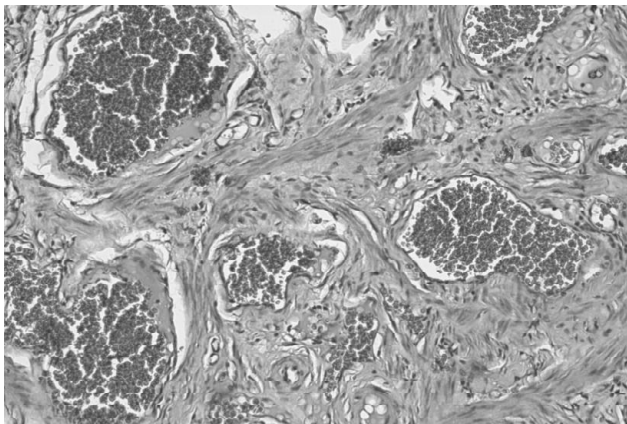
При гістологічному дослідженні маткових труб (МТ) в їх просвіті визначались тканини хоріона у 68,2 %, скопичення лейкоцитів - 40,0 %, лейкоцитарний детрит - 21,2 %, некротизовані тканини - 3,5 % випадків. В 75,3



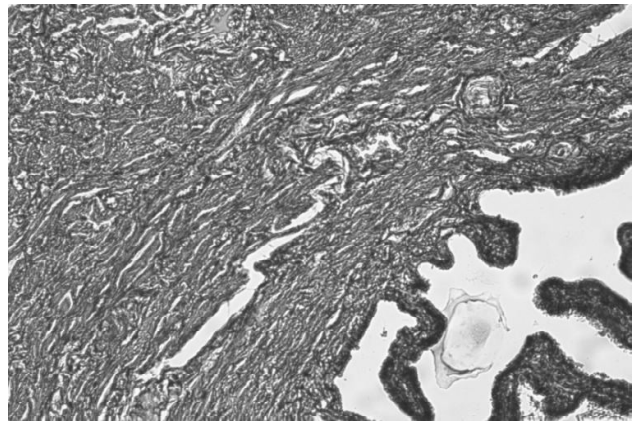
**Рис. 1.** Трубна вагітність. Стінка МТ з вогнищами крововиливів. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Мікрофотографія. Об. 10. Ок. 10.



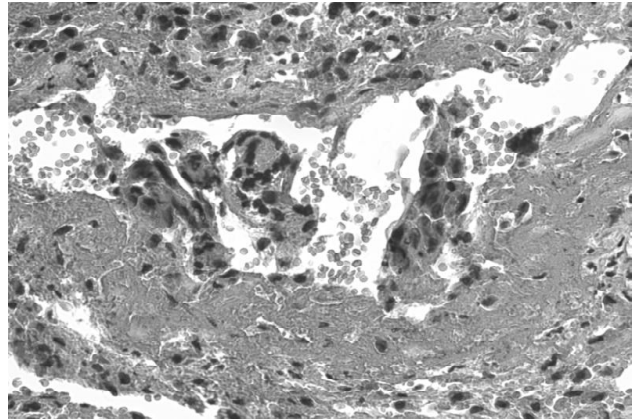
**Рис. 2.** Трубна вагітність. Стінка МТ з вогнищами набряку. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Мікрофотографія. Об. 10. Ок. 10.



**Рис. 3.** Трубна вагітність. Повнокрів'я судин м'язової оболонки МТ. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Мікрофотографія. Об. 10. Ок. 10.



**Рис. 4.** Трубна вагітність. Стінка МТ з явищами фіброзу. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Мікрофотографія. Об. 10. Ок. 10.



**Рис. 5.** Трубна вагітність. Інвазія багатоядерних симпластів в стінку маткової труби. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Мікрофотографія. Об. 10. Ок. 20.

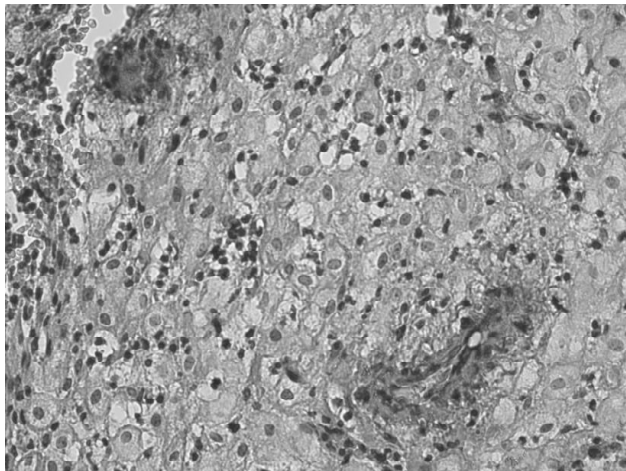
% випадків спостерігались явища хронічного сальпінгіту. При цьому відзначалась рясна інфільтрація стінки маткової труби лімфоцитами та плазматичними клітинами, з вогнищами крововиливів та набряку (рис. 1, 2).

Привертало на увагу те, що у переважній більшості судин МТ відзначались явища повнокрів'я, стазу та іноді тромбозу (рис. 3).

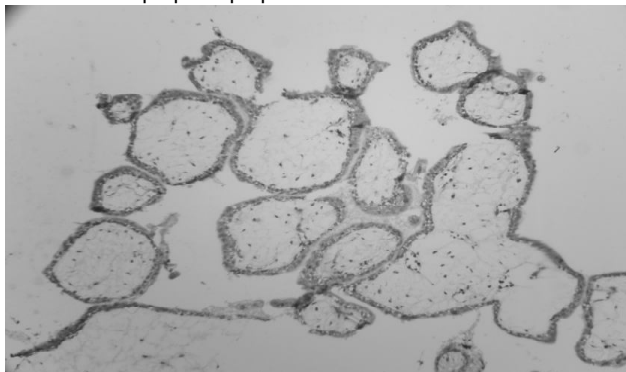
Поряд із цим, відзначались явища фіброзу та ділянки розростання жирової тканини в стінці МТ (рис. 4).

У обстежених нами жінок деформуючий сальпінгіт спостерігався в 42 (49,4 %) випадках, кістозний - у 21 (24,7 %) зразках. У 3 (3,5 %) жінок визначалась залози-ста гіперплазія слизової оболонки МТ, атрофія слизової МТ відзначалась у 13 (15,3 %) зразках, у 5 (5,9 %) випадках визначався аденоматоз. Трофобластична інвазія в більшості випадків відзначалась в ендосальпінксі та поширювалась в міосальпінкс, а іноді захоплювала усі шари стінки МТ. За умов трубної вагітності в процес трофобластичної інвазії були залучені як цитотрофобласт, так і синцитіальні багатоядерні комплекси (рис. 5).

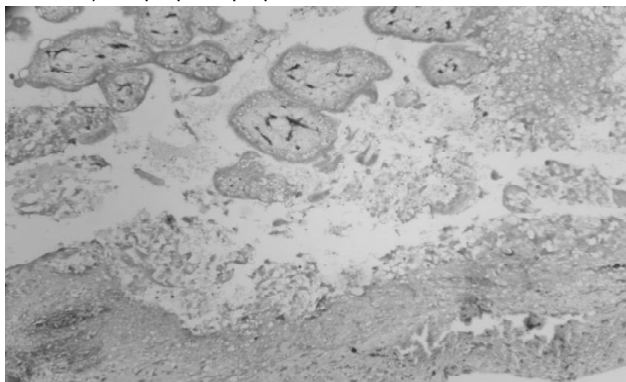
Паралельно із вивченням стану маткових труб у 25 (29,4 %) жінок, проводилось дослідження біоптатів яеч-



**Рис. 6.** Трубна вагітність. Периваскулярний фіброз судин децидуальної оболонки. Забарвлення гематоксилином і еозинном. Мікрофотографія. Об. 10. Ок. 20.



**Рис. 7.** Прогресуюча трубна вагітність. Зниження експресії МКАТ Ki-67 в хоріальних структурах. Непрямий стрептовідін-пероксидазний метод виявлення інтенсивності та розповсюдженості реакції з МКАТ до Ki-67 (імуногістохімічне дослідження). Мікрофотографія. Ок. 10 Об. 20.



**Рис. 8.** Прогресуюча трубна вагітність. Зниження експресії МКАТ CD-31 в ендотелії судин хоріальних структур та стінці МТ. Непрямий стрептовідін-пероксидазний метод виявлення інтенсивності та розповсюдженості реакції з МКАТ до Ki-67 (імуногістохімічне дослідження). Мікрофотографія. Ок. 10 Об. 20.

ника. Як показали дослідження, в яєчниковій тканині дрібні фолікули на різних стадіях дозрівання виявлялись у 20 (80,0 %) жінок, жовте тіло - у 15 (60,0 %)

пацієнток, ознаки хронічного оофориту - в 19 (76,0 %) випадків.

Гістологічне дослідження вишкрібів із порожнини матки було проведено у 60 (70,6 %) жінок. При цьому, в 32 (53,3 %) випадках було виявлено децидуальну тканину зі світлими залозами вагітності, а у 45 (75,0 %) жінок відзначався децидуїт, який характеризувався значною інфільтрацією тканини лімфоцитами та плазматичними клітинами, вогнищами крововиливів та набряку, явищами периваскулярного фіброзу (рис. 6).

У жінок з трубною вагітністю у 28 (46,7 %) випадках визначались патологія ендометрія, а саме: хронічний ендометрит 22 (78,6 %) випадки, гострий ендометрит - 5 (17,9 %) випадків, диспластичний ендометрій естрогенного типу - 4 (14,3 %) випадки, проста гіперплазія ендометрія - 1 (3,6 %) випадок, поліпоутворення - 3 (10,7 %) випадки, залозистий поліп ендометрія - 14 (50,0 %) випадків, залозисто-фіброзний поліп ендометрія - 9 (32,1 %) випадків, аденоматозний - 1 (3,6 %) випадок. У 6 (21,4 %) жінок визначався поліп цервікального каналу.

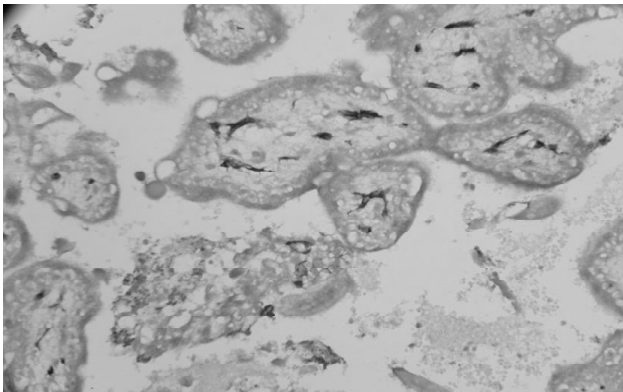
З метою оцінки процесів проліферації та ангиогенезу, за умов трубної вагітності, було проведено імуногістохімічне дослідження децидуальної та хоріальної тканини із вивченням рівня експресії проліферативно-регенераторного маркера Ki-67 та ендотеліального фактору CD31 (PECAM-1), а також мезенхімального фактору Vimentin.

Антиген Ki-67 є ядерним білком, необхідним для клітинної проліферації, крім того, він пов'язаний з рибосомальною РНК транскрипції. Як відомо, ендотеліальний фактор CD31 є фактором адгезії тромбоцитів до ендотелію (platelet endothelial cell adhesion molecule) та використовується в імуногістохімії для оцінки процесів проліферації та ангиогенезу в тканинах [Автандилов, 2007].

У фізіологічних умовах ендотеліальна клітина не експресує молекули адгезії. Збільшення концентрації останніх на поверхні клітини виникає під впливом різних ушкоджуючих факторів - збільшення напруження лінійного руху в певній ділянці артерії, накопичення в субендотеліальному просторі окислених ліпідів і ліпопротеїдів. Vimentin - широко розповсюджений в тканинах цитрулінований білок, котрий синтезується та модифікується макрофагами під регуляцією прозапальних та запальних цитокінів. Vimentin є білком цитоскелета різних типів клітин, який відповідає за цілісність клітини, і є маркером мезодермальних тканин [Киселев, Ляшенко, 2005].

З метою дослідження проліферативного маркера Ki-67 в різних структурах хоріона, було обстежено гістологічний матеріал 40 пацієнток. Вони були розподілені на 2 групи: основна група - жінки із прогресуючою трубною вагітністю (ПТВ) (n=20), група порівняння - жінки з вагітністю, що не розвивається (n=20).

Наведені дані свідчать, що у жінок основної групи,



**Рис. 9.** Група порівняння. Експресія МКАТ СД-31 в ендотелії судин ворсин хоріона. Непрямий стрептовідін-пероксидазний метод виявлення інтенсивності та розповсюдженості реакції з МКАТ до Ki-67 (імунгістохімічне дослідження). Мікрофотографія. Ок. 10 Об. 20.

були найменш виражена експресія МКАТ до Ki-67 в ядрах клітин хоріальної оболонки та ворсинок хоріона (рис. 7). Поряд із цим, за умов трубної вагітності відзначалось різке зниження або повна відсутність експресії ендотеліального фактора СД31 в ендотелії судин хоріальних структур і стінці маткової труби (рис. 8), а в групі жінок із вагітністю, що не розвивається, відзначалась виражена експресія СД31 в ендотелії судин ворсин хоріона (рис. 9).

Аналіз даних морфологічних та імунгістохімічних досліджень тканин МТ, яєчникової, децидуальної тканини та хоріальної оболонки засвідчив наявність ознак, характерних для хронічного запального процесу. Отже, у переважній більшості жінок виникненню трубної вагітності передували хронічні запальні захворювання ге-

ніталій, що зумовили формування значних функціональних та морфологічних змін тканин вищезазначених структур. Все це зашкоджувало своєчасному дозріванню фолікула, овуляції та формуванню повноцінного жовтого тіла, що зумовлювало дискоординацію росту плідного яйця та швидкості його пересування по матковій трубі внаслідок як морфологічних змін слизової, так і функціональних характеристик маткової труби. Для ектопічної нідації характерним було зниження проліферативних процесів в хоріальній тканині порівняно із матковою локалізацією плідного яйця.

### Висновки та перспективи подальших розробок

1. Проведені патоморфологічні та імунгістохімічні дослідження встановили, що ключовим фактором, який зумовлює ектопічну цитотрофобластичну інвазію є хронічні запальні захворювання геніталій, що, з одного боку, призводить до порушення функціональної активності яєчників із розладами овуляції та формування жовтого тіла, а з іншого боку, зумовлює розвиток незворотних морфологічних змін із порушенням прохідності та функціональної спроможності перистальтики маткових труб.

Для ектопічної нідації характерним є різке зниження проліферативних процесів у хоріальній тканині на тлі явищ хронічного сальпінгіту, який гістологічно був верифікований у 75,3 % випадках.

Перспективи досліджень пов'язані із подальшим дослідженням ультраструктурних морфологічних змін маткових труб та хоріальної тканини у жінок із трубною вагітністю.

### Список літератури

- Автандилов Г. Г. Морфометрическое исследование пролиферативной активности клеток аденомы желудка по гистобиоптатам / Г. Г. Автандилов, Н. В. Купрюшина // Российский журнал Гастроэнтерологии, Гепатологии, Колопроктологии. - 2007. - № 3. - С. 24-28.
- Адамян Л. В. Современные подходы к лечению эктопической беременности / Л.В. Адамян, И.С. Чернова, А.В. Козаченко // Проблемы репродукции. - 2008. - Спецвыпуск. - С. 177-178.
- Власова Н. В. Профилактика развития вторичного бесплодия у пациенток с трубной беременностью / Н. В. Власова // Казанский медицинский журнал. - 2007. - Т. 88, № 2. - С. 156-157.
- Гуриев Т. Д. Внематочная беременность: учебное пособие для системы-послевузовского профессионального образования врачей / Т.Д. Гуриев, И. С. Сидорова. - М.: Практическая медицина, 2007. - 96 с.
- Давыдов А. И. Биологические маркеры внематочной беременности // А. И. Давыдов, В. С. Попова // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. - 2010. - Т. 9, № 6. - С. 52-62.
- Каушанская Л. В. Особенности клинического течения внематочной беременности / Л. В. Каушанская // Российский вестник акушера-гинеколога. - 2008. - № 4. - С. 59-61.
- Киселев В. И. Молекулярные механизмы регуляции гиперпластических процессов / В. И. Киселев, А. А. Ляшенко. - М.: "Димитрейд График Групп", 2005. - 348 с.
- Профилактика материнской смертности: мониторинг при беременности и в родах / Н.В. Башмакова, В.В. Ковалев, С.В. Татарева [и др.] // Акуш. и гин. 2011. - № 2. - С. 86-92.
- Эктопическая беременность: медико-социальные проблемы / [Гаспаров А. С., Косаченко А. Г., Хачатрян А. Н. и др.] // Лапароскопия и гистероскопия в гинекологии и акушерстве. - М.: ПАНТОРИ, 2002. - С. 207-208.

**Бражук М.В., Кондратюк В.К., Дзись Н.П.**

### ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ДЕЦИДУАЛЬНОЙ ОБОЛОЧКИ И ХОРИОНА У ЖЕНЩИН С ТРУБНОЙ БЕРЕМЕННОСТЬЮ

**Резюме.** Проведено гистологическое и иммуногістохімічне дослідження 85 образцов оперативного материала (участки маточных труб, плодное яйцо, участки яичников, соскоб из полости матки), полученный от женщин с трубной беременностью. Для эктопической нидации характерно резкое снижение пролиферативных процессов в хоріальной ткани, свидетельством чего является снижение экспрессии регенетарорно-пролиферативного маркера Ki-67 в ворсинках хоріона, в сочетании с резким снижением или полным отсутствием экспрессии ендотеліального фактора СД31 в ендотеліи сосудов хоріальных структур и стенке маточной трубы на фоне явлений хронического сальпінгіта, который имел

место в 75,3% случаях. Проведенные исследования показали ключевую роль хронического воспалительного процесса гениталий в патогенезе трубной беременности.

**Ключевые слова:** патоморфология, иммуногистохимия, децидуальная оболочка, хорион, трубная беременность.

**Brazhuk M.V., Kondratyuk V.P., Dzis N.P.**

### THE PATHOMORPHOLOGICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL FEATURES OF DECIDUA AND CHORION IN WOMEN WITH TUBAL PREGNANCY

**Summary.** A histological and immunohistochemical study of 85 surgical samples of the material (areas of fallopian tube, the fertilized egg, areas of ovaries, decidua, curettage of the uterus) from women with tube pregnancy was made. For ectopic nidation typical is a sharp decrease in proliferative processes in the chorale tissue, as evidenced by the downregulation proliferative marker Ki-67 in the chorionic villi, combined with a sharp decline or no expression of endothelial factor SD31 in vascular endothelium of chorion structures and of the fallopian tube background of chronic salpingitis, which occurred in 75,3% of cases. These studies have shown the key role of chronic inflammation in the pathogenesis of genital tubal pregnancy.

**Key words:** pathomorphology, immunohistochemistry, decidua, chorion, tubal pregnancy.

Стаття надійшла до редакції 23. 12. 2014 р.

*Бразжук Марина Дмитрівна* - лікар відділення реабілітації репродуктивної функції жінок, ДУ "Інститут педіатрії, акушерства і гінекології НАМН України"; +38 097 944-28-80; marinabrazhuk@bigmir.net

*Кондратюк Валентина Константинівна* - д.мед.н., головний науковий співробітник відділення планування сім'ї ДУ "Інститут педіатрії, акушерства і гінекології НАМН України"; +38 050 334-53-87; kondratiuk\_valentina@mail.ru

*Дзись Наталія Петрівна* - д.мед.н., професор кафедри акушерства та гінекології Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова; +38 067 986-18-82; nata.d@list.ru

---

© Волощук Н.І., Таран І.В., Конюх С.А.

УДК: 577.81: 577.1: 591.4: 615.03

**Волощук Н.І., Таран І.В., Конюх С.А.**

Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова, кафедра фармакології (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, Україна, 21018)

## ВПЛИВ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ НА АНАЛЬГЕЗУЮЧИЙ ТА ПРОТИЗАПАЛЬНИЙ ЕФЕКТИ ДИКЛОФЕНАКУ НАТРІЮ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

---

**Резюме.** В експериментах на лабораторних щурах та мишах визначали вплив гідроген сульфідну на анальгезуючий та протизапальний ефекти диклофенаку натрію. Антиноціцептивну та антифлогенну дію донора гідроген сульфідну ( $\text{NaHS}$  в дозі 1,5 мг/кг в/оч), диклофенаку (8 мг/кг в/шл) та їх комбінації вивчали на моделях електричного подразнення, формалінового і карагенінового набряків. Було встановлено, що натрій гідроген сульфід зменшував прояви запального процесу та проявляв помірну антиноціцептивну дію у інтактних тварин та виразний анальгетичний ефект при експериментальному запаленні. Його введення посилювало фармакологічну дію диклофенаку натрію. Таким чином, спроможність гідроген сульфідну модулювати фармакодинаміку НПЗЗ може бути перспективним напрямком підвищення ефективності та безпеки фармакотерапії препаратами цієї групи.

**Ключові слова:** гідроген сульфід, диклофенак натрію, формаліновий тест, карагеніновий набряк, протизапальна, анальгезуюча дія.

---

### Вступ

Ефективне та безпечно лікування больових синдромів залишається пріоритетним напрямком наукових досліджень у всьому світі. Поряд з пошуком і створенням нових анальгезуючих засобів, досить перспективним є більш раціональне використання вже існуючих препаратів, якому передують ретельне вивчення різних факторів (як екзо-, так і ендогенного характеру), здатних модулювати фармакодинамічні та фармакокінетичні параметри лікарських засобів. Серед цих чинників викликає інтерес така вазоактивна молекула як гідроген сульфід ( $\text{H}_2\text{S}$ ). В арсеналі біологічних ефектів гідроген сульфідну описані: участь у регуляції судинного тону, нейротрансмісії, іотропний вплив на міокард, стимулювання продукції інсуліну і т.п. [Li et al., 2006; Lowicka, Beltowski, 2007; Caliendo et al., 2010]. Цей фізіологічний месенджер, поряд з простагландинами, ліпоксинами та ін., відіграє важливу роль у забезпеченні цитопротекції

шлунка. Було показано, що ендогенний  $\text{H}_2\text{S}$  захищає слизову оболонку шлунка на різних моделях експериментальних виразок у щурів, в тому числі, і індукованих нестероїдними протизапальними засобами (НПЗЗ) [Волощук, 2014; Wallace et al., 2007; Mard et al., 2012]. У літературі зустрічаються відомості про участь цієї молекули в модулюванні запального процесу і перцепції, проте, це питання залишається до кінця не з'ясованим, оскільки дані літератури у багатьох питаннях суперечать один одному [Li et al., 2006; Zanardo et al., 2006; Lee et al., 2009]. Залишаються невідомими механізми реалізації цих ефектів, а також вплив гідроген сульфідну на фармакологічну активність лікарських засобів з анальгезуючою та протизапальною діями.

Тому метою проведеного дослідження було визначення впливу гідроген сульфідну на анальгезуючу та протизапальну дію диклофенаку натрію.