

**В.М.Костюк**

Івано-Франківський національний медичний університет

**Ключові слова:** плацента, залізодефіцитна анемія, плацентарний лактоген, окисна модифікація білків.

*Надійшла: 14.12.2012*

*Прийнята: 18.02.2013*

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2013.1.49-53>

УДК 618.36+618.3-06+616-091.817

## **ГОРМОНСИНТЕЗУЮЧА АКТИВНІСТЬ ТА ОКИСНА МОДИФІКАЦІЯ БІЛКІВ ПЕРИФЕРІЙНОГО ЦИТОТРОФОБЛАС- ТА ПЛАЦЕНТИ ПРИ ЗАЛІЗОДЕФІЦИТ- НІЙ АНЕМІЇ ВАГІТНИХ**

*Дослідження проведено у рамках науково-дослідної роботи “Патоморфологія серцево-судинної системи, плаценти, жирової тканини, нирок, головного мозку, регуляторних систем (APUD, імунної) при метаболічному синдромі, гострій ішемії міокарда, облітеруючих захворюваннях судин нижніх кінцівок, хворобах легень, пухлинних процесах і внутрішньоутробних інфекціях у клініці й експерименті” (номер державної реєстрації 0107U002769).*

**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 дослідження показали, що залізодефіцитна анемія вагітних сприяє підсиленню процесів вільнорадикального окислення білків у всіх структурах периферійного цитотрофобласта крім багатоядерних трофобластичних гігантських клітин і дрібних веретеноподібних трофобластичних клітин базальної пластинки та супроводжується зниженням концентрації плацентарного лактогену у всіх клітинах периферійного цитотрофобласта.

**Морфологія.** – 2013. – Т. VII, № 1. – С. 49-53.

© В.М.Костюк, 2013

**Kostyuk V.M. Hormone synthesizing activity and oxidative modification of proteins in peripheral placental cytotrophoblast iron anemia in pregnant women.**

**Summary.** A morphological study of placentas of 90 pregnant women with iron deficiency anemia of various degrees of severity, and 30 cases without anemia that in the control group. Forming groups studied placentas 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. In 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 showed that iron deficiency anemia pregnant promotes strengthening processes of free radical oxidation of proteins in all structures except peripheral cytotrophoblast multi trophoblastic giant cells and small fusiform trophoblastic cells of the basal plate and is accompanied by a decrease in the concentration of placental lactogen in all cells peripheral cytotrophoblast.

**Key words:** placenta, iron deficiency anemia, placental lactogen, oxidative modification of proteins.

### **Вступ**

Залізодефіцитна анемія вагітних (ЗДАВ) залишається актуальною проблемою акушерства та гінекології, характеризуючись високою частотою захворюваності, яка становить від 28,4% до 83,1% (Жабченко І.А., 2000; Лукьянова Л.Д., 2000), сприяючи розвитку ускладнень як у матері так і дитини (Артеменко Г.Я., 1999; Давиденко І.С., 2006). ЗДАВ приводить до порушення газо-

обмінної, трофічної, видільної, захисної, імунологічної та ендокринної функцій, супроводжуючись розвитком морфологічних та функціональних змін у тканині плаценти та периферійному цитотрофобласті (ПЦТ) зокрема, перешкоджаючи фізіологічному перебігу вагітності і пологів, нормальному розвитку і росту плода (Глуховец Б.И., 2002). У роботах вітчизняних та зарубіжних науковців висвітлено результати дослідження

плаценти при пізніх гестозах (Миловидова А.З., 2004), народженні дітей від матерів із акушерською, екстрагенітальною та інфекційно-запальною патологією (Мельникова В.Ф., 1993), антенатальній гіпоксії плода (Ситнікова В.О., 2004). Вивченню гормональної активності та морфологічної характеристики структур матково-плацентарної ділянки в різні терміни гестації у тканині плаценти присвячено ряд робіт професора І.С. Давиденка (Давыденко И.С., 2005; Давиденко И.С., 2005). Разом з тим, на даний час не знайдено жодних даних відносно гормональної функції та перебігу процесів окисної модифікації білків в структурах периферійного цитотрофобласта плаценти на фоні залізодефіцитної анемії вагітних.

#### **Мета дослідження**

Визначити рівень окисної модифікації білків та дослідити гормонсинтезуючу функцію периферійного цитотрофобласта плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних.

#### **Матеріали та методи**

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, ізоімунним конфліктом, аномаліями розвитку посліду (екстрахоріальні, з аномаліями пуповини чи оболонки, 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), 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, IV ст. – 50 г/л і менше.

Досліджувані групи склали вагітні з однаковиими 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.

У роботі використані імуногістохімічні та гістохімічні методи дослідження для визначення концентрації плацентарного лактогену та рівня окисної модифікації білків у структурах периферійного цитотрофобласта. Отримані результати проаналізовані за правилами варіаційної статистики.

При постановці імуногістохімічної та гісто-

хімічної методик для визначення концентрації плацентарного лактогену та рівня окисної модифікації білків (ОМБ) у структурах периферійного цитотрофобласта, вирізані шматочки плаценти фіксували впродовж 22-х годин у нейтральному забуференому 10% водному розчині формаліну, після чого їх зневоднювали у висхідній батареї етанолу і заливали в парафін. Для постановки імуногістохімічної методики отримані зрізи товщиною 5 мкм. монтували на спеціальні неімуногенні предметні скельця SuperFrost®Plus (Німеччина) та проводили реакцію з первинними моноклональними антитілами виробників Dako Cytomation (Данія, США) проти плацентарного лактогену та їх візуалізацію стрептавідин-біотиновим методом із використанням діамінобензидину та дофарбовуванням клітинних ядер гемалауном Майєра. Для кількісного дослідження інтенсивності зафарбування цитоплазми клітин периферійного цитотрофобласта отримували цифрові копії оптичного зображення за допомогою цифрової фотокамери Nikon Coolpix 4500 та мікроскопа біологічного XSP-128B (об. 40, ок. 10). 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).

Для визначення ступеня ОМБ гістологічні зрізи фарбували бромфеноловим синім за Мікель-Кальво. За допомогою цифрової фотокамери Nikon Coolpix 4500 та мікроскопа біологічного XSP-128B (об. 20, ок. 10) оптичні зображення переводили у цифрові та аналізували за допомогою комп'ютерної програми "Color Pic", шляхом зондової комп'ютерної мікроспектрометрії у системі аналізу кольору RGB (Red, Green, Blue). Оцінювали інтенсивність зеленого та синього кольору у забарвленні. Оскільки зелене забарвлення при методиці Мікель-Кальво відповідає карбонільним групам, а синє – аміногрупам білків, то шляхом встановлення математичного співвідношення між інтенсивністю забарвлення в обидва кольори (ділянки спектра) оцінювали ступінь ОМБ. Для порівняння показників використовували непарний двосторонній критерій Стьюдента. Для прийняття чи відхилення статистичної гіпотези застосували рівень вірогідності  $p < 0,05$ .

#### **Результати та їх обговорення**

З урахуванням реальної частоти виявлення клітин периферійного цитотрофобласта у термін гестації 37-40 тижнів та фактично отриманих при імуногістохімічних та гістохімічних дослідженнях особливостей вмісту та розподілу плацентарного лактогену та цитоплазматичних білків, виділили вісім наступних локалізаційних варіантів клітин. I. Периферійний цитотрофобласт ді-

лянки хоріального дерева: клітини інтеркотиледонних септ, клітини клітинних острівців; II. Периферійний цитотрофобласт, локалізований в артеріях матково-плацентарної ділянки: інтрамуральний ендovasкулярний трофобласт базальної пластинки, внутрішньоартеріальний ендovasкулярний трофобласт базальної пластинки; III. Периферійний цитотрофобласт, який локалізовано позасудинно у матково-плацентарній ділянці: клітини у смузі фібриноїду Рора базальної пластинки, клітини у смузі фібриноїду Нітабуха базальної пластинки, багатоядерні трофобластичні гігантські клітини базальної пластинки, дрібні

веретеноподібні трофобластичні клітини базальної пластинки.

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 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).

Таблиця 1

Результати комп'ютерної денситометрії (вимірювання у відносних одиницях оптичної щільності) забарвлення цитоплазми клітин периферійного цитотрофобласта з використанням імуногістохімічної методики на плацентарний лактоген ( $M \pm m$ )

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±0,0024	0,230±0,0014	0,196±0,0018 Pф<0,001 PI<0,001	0,191±0,0019 Pф<0,001 PI<0,001
Клітинні острівці	0,142±0,0018	0,143±0,0016	0,140±0,0014	0,140±0,0011
Інтрамуральний ендovasкулярний трофобласт базальної пластинки	0,240±0,0032	0,242±0,0034	0,206±0,0036 Pф<0,001 PI<0,001	0,197±0,0028 Pф<0,001 PI<0,001 PII<0,05
Внутрішньоартеріальний ендovasкулярний трофобласт базальної пластинки	0,291±0,0026	0,275±0,0029 Pф<0,05	0,271±0,0028 Pф<0,001	0,270±0,0033 Pф<0,001
Смуга фібриноїду Рора	0,238±0,0022	0,237±0,0025	0,207±0,0023 Pф<0,001 PI<0,001	0,208±0,0021 Pф<0,001 PI<0,001
Смуга фібриноїду Нітабуха	0,138±0,0029	0,136±0,0027	0,139±0,0028	0,136±0,0031
Багатоядерні трофобластичні гігантські клітини	0,134±0,0015	0,132±0,0013	0,135±0,0018	0,132±0,0016
Дрібні веретеноподібні трофобластичні клітини	0,147±0,0022	0,147±0,0020	0,147±0,0021	0,146±0,0027

Для встановлення причинно-наслідкових зв'язків щодо зниження концентрації гормону плацентарного лактогену та інтенсифікації процесів відмирання периферійного цитотрофобласта різної локалізації при залізодефіцитній анемії вагітних було проведено гістохімічне дослідження стану білків в аспекті їх окислювальної модифікації, яка закономірно зростає при анемії внаслідок підсилення утворення вільних радикалів кисню. Результати дослідження показали, що тільки у багатоядерних трофобластичних гігантських клітинах базальної пластинки та дрібних веретеноподібних трофобластичних клітинах

базальної пластинки не зареєстровано вірогідного зростання показника G/B, отже, і рівня ОМБ, хоча слід вказати на те, що навіть для цих клітин виявлена статистична тенденція до підсилення ОМБ, адже рівень вірогідності був  $\leq 0,05$  у порівнянні з фізіологічною вагітністю (табл. 2).

#### Висновки

1. Імуногістохімічні дослідження активності периферійного цитотрофобласта щодо синтезу плацентарного лактогену показали, що залізодефіцитна анемія вагітних впливає на концентрацію плацентарного лактогену в цитоплазмі клітин інтеркотиледонних септ, інтрамурального

ендоваскулярного трофобласта, внутрішньоартеріального ендоваскулярного 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.

Таблиця 2

Результати комп'ютерної спектрометрії (вимірювання величини коефіцієнта G/B) місць забарвлення цитоплазми клітин периферійного цитотрофобласта при залізодефіцитній анемії вагітних (M±m)

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)
Клітини інтеркотилодонних септ	0,67±0,024	0,69±0,025	0,78±0,028 Pф<0,01 PI<0,05	0,90±0,031 Pф<0,001 PI<0,001 PII<0,05
Клітини клітинних остриців	0,44±0,018	0,69±0,023 Pф<0,001	0,80±0,029 Pф<0,001 PI<0,01	0,92±0,028 Pф<0,001 PI<0,001 PII<0,001
Інтрамуральний ендоваскулярний трофобласт базальної пластинки	0,61±0,034	0,78±0,038 Pф<0,01	0,86±0,044 Pф<0,01	0,94±0,044 Pф=0,001 PI<0,01
Внутрішньо-артеріальний ендоваскулярний трофобласт базальної пластинки	0,64±0,028	0,83±0,029 Pф<0,01	0,94±0,032 Pф<0,001 PI<0,05	1,08±0,038 Pф<0,001 PI<0,01 PII<0,01
Клітини смуги фібриноїду Рора	0,62±0,032	0,73±0,038 Pф<0,05	0,84±0,040 Pф<0,01 PI=0,05	0,96±0,042 Pф<0,001 PI<0,01 PII<0,05
Клітини смуги фібриноїду Нітабуха	0,61±0,031	0,73±0,035 Pф<0,05	0,86±0,042 Pф<0,01 PI<0,05	0,97±0,035 Pф<0,001 PI<0,01 PII=0,05
Багатоядерні трофобластичні гігантські клітини	0,92±0,036	0,90±0,038	0,95±0,037	1,01±0,040
Дрібні веретеноподібні трофобластичні клітини	0,42±0,028	0,44±0,029	0,44±0,027	0,50±0,031

2. Високі показники рівня окислювальної модифікації білків у цитоплазмі клітин периферійного цитотрофобласта вказують на те, що залізодефіцитна анемія вагітних сприяє підсиленню процесів окислення білків у всіх структурах крім багатоядерних трофобластичних гігантських клітин та дрібних веретеноподібних трофоб-

ластичних клітин базальної пластинки.

**Перспективи подальших досліджень** пов'язані із визначенням питомого об'єму виділених структур периферійного цитотрофобласта з вивченням функціонального стану їх клітин.

### Літературні джерела

Артеменко Г. Я. Діагностика і лікування фетоплацентарної недостатності у вагітних з преєклампсією 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.

Глуховец Б. И. Патология послета / Глуховец Б. И., Глуховец Н. Г. – СПб: ГРААЛЬ, 2002.

– 448 с.

Давиденко І. С. Морфологічна характеристика структур матково-плацентарної ділянки в різні терміни гестації при залізодефіцитній анемії у вагітних / І. С. Давиденко // Клінічна та експериментальна патологія. – 2005. – Т. 4, № 3. – С. 49 – 53.

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.

Давиденко І. С. Иммуногистохимия плацентарного лактогена с помощью компьютерной микроденситометрии в синцитиотрофобласте плаценты в связи с железodefицитной анемией беременных / И. С. Давиденко, Т. Д. Задорожная // Здоровье женщины. – 2005. - № 2 (22). – С. 35-38.

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.

Лукьянова Л. Д. Современные проблемы ги-

поксии / Л. Д. Лукьянова // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2000. - № 1. – С. 3-12.

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.

Миловидова А. З. Электронномикроскопические и стереометрические характеристики плацентарного барьера при сочетании железodefицитной анемии беременных и ОПГ-гестоза / А. З. Миловидова // Буковинський медичний вісник. – 2004. – Т. 8, № 3-4. – С. 317-318.

Ситнікова В. О. Колагеноутворення в плаценті при гіпоксії плода / В. О. Ситнікова, А. І. Даниленко // Буковинський медичний вісник. – 2004. – Т. 8, № 3-4. – С. 324-325.

### **Костюк В.Н. Гормонсинтезирующая активность и окислительная модификация белков периферического цитотрофобласта плаценты при железodefицитной анемии беременных.**

**Резюме.** Проведено морфологическое исследование плацент у 90 беременных с железodefицитной 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 исследования показали, что железodefицитная анемия беременных способствует усилению процессов свободнорадикального окисления белков во всех структурах периферического цитотрофобласта кроме многоядерных трофобластических гигантских клеток и мелких веретенообразных трофобластических клеток базальной пластинки и сопровождается снижением концентрации плацентарного лактогена во всех клетках периферического цитотрофобласта.

**Ключевые слова:** плацента, железodefицитная анемия, плацентарный лактоген, окислительная модификация белков.