

Імуногістохімічні особливості експресії прогестеронових рецепторів плацентарних структур при передчасних пологах

В.О. Ткаліч, І.В. Поладич

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ

Мета дослідження: вивчення імуногістохімічних особливостей посліду у породіль із передчасними пологами у термінах 28–33 тиж.

Матеріали та методи. Обстежено 120 вагітних (основна група), які були госпіталізовані та розроджені у Перинатальному центрі м. Києва протягом 2018–2020 рр. у терміні гестації 23–33 тиж. Жінки основної групи розподілені на дві підгрупи залежно від терміну пологів – до 1-ї групи увійшли пацієнтки, які народили у 23–28 тиж вагітності, пацієнтки 2-ї групи народили у терміні 29–33 тиж.

Плаценти вагітних основної групи досліджували за допомогою морфологічного (гістологічний метод – забарвлення гематоксиліном та еозином і за ван Гізоном) та імуногістохімічного методів (непрямий стрептавідин-пероксидазний метод визначення рівня експресії рецепторів прогестерону – RP).

Результати. У 40 % плацент жінок 1-ї групи виявлено передчасне дозрівання ворсин хоріона, у 20 % – порушення кровообігу та наявність гострої запальної інфільтрації у плодових оболонках, децидуальній та хоріальній оболонках, у 10 % – патологічна незрілість плаценти за варіантом хаотичних склерозованих ворсин. Під час імуногістохімічного дослідження RP відзначено невиражену реакцію в епітелії та клітинах строми стовбурових, проміжних та термінальних ворсин – 1 бал; у плодових оболонках та позаворсинчастому цитотрофобласті – 2 бали; в ендотелії судин – 0–1 бал.

У плацентах жінок 2-ї групи встановлено передчасне дозрівання ворсин – у 70 % випадків, псевдоінфаркти ворсин, замуrowаних у фібриноїд, що займають значну площу, – у 45 %, афункціональні зони – у 55 %, порушення кровообігу – у 35 %, патологічну незрілість плаценти за варіантом хаотичних склерозованих ворсин – у 20 %, гостру запальну інфільтрацію у плодових оболонках – у 15 %. Імуногістохімічний аналіз плацентарного бар'єра виявив найбільшу експресію RP у ядрах децидуальних клітин, що належать до материнської структури. Слід відзначити наявність експресії прогестеронових рецепторів у стовбурових ворсинах, фібробластах та ядрах стінки судин. Виявлена мінімальна або відсутня експресія у ядрах інших ворсинчастих структур, їхніх судинах.

Висновки. Установлено, що рецептивність прогестерону має свої особливості у плацентарних структурах залежно від терміну гестації, що є важливим чинником у виборі тактики ведення цього контингенту вагітних з метою профілактики та зниження перинатальних втрат.

Ключові слова: передчасні пологи, прогестеронові рецептори, плацента, імуногістохімія.

Immunohistochemical features of expression of progesterone receptors of placental structures in premature birth

V.O. Tkalic, I.V. Poladych

The objective: to study the immunohistochemical features of placenta in women with premature birth in 28–33 weeks of pregnancy.

Materials and methods. 120 pregnant women (the main group) who were hospitalized and delivered in the Kyiv Perinatal Center during 2018–2020 at a gestation period of 23–33 weeks were examined. The women of the main group were divided into two subgroups depending on the term of birth – the 1st group included patients who delivered at 23–28 weeks of pregnancy, the patients of the 2nd group had labors at 29–33 weeks.

Placentas of women in the main group were examined using morphological (histological method – staining with hematoxylin and eosin and van Gieson) and immunohistochemical methods (indirect streptavidin-peroxidase method for determining the expression level of progesterone receptors – PR).

Results. Premature maturation of chorionic villi was found in 40 % of placentas of women in the 1st group, in 20 % – blood circulation disorders and the presence of acute inflammatory infiltration in the fetal membranes, decidual and chorionic membranes, 10 % – pathological immaturity of the placenta according to the variant of chaotic sclerosed villi. During the immunohistochemical study of RP, an unexpressed reaction was found in the epithelium and stromal cells of stem, intermediate and terminal villi – 1 point; in fetal membranes and extravillous cytotrophoblast – 2 points; in the endothelium of vessels – 0–1 point.

In the placentas of women in the 2nd group premature maturation of villi was found in 70 % of cases, pseudoinfarcts of villi which are embedded in fibrinoid occupying a significant area – 45 %, afunctional zones – 55 %, blood circulation disorders – 35 %.

pathological immaturity placenta according to the variant of chaotic, sclerosed villi – 20 %, acute inflammatory infiltration in the fetal membranes – 15 %. Immunohistochemical analysis of the placental barrier revealed the highest expression of RP in the nuclei of decidual cell which belong to the maternal structure. It should be noted the presence of expression of progesterone receptors in stem villi, fibroblasts and nuclei of the vessel wall. Minimal or absent expression was determined in the nuclei of other villous structures and their vessels.

Conclusions. It was established that the receptivity of progesterone has its own characteristics in placental structures depending on the gestation period, which is an important factor in the choice of management for the prevention and reduction of perinatal losses for this contingent of pregnant women.

Keywords: premature birth, progesterone receptors, placenta, immunohistochemistry.

Сьогодні спостерігається підвищений інтерес до прогестерону, оскільки він відіграє центральну роль у настанні вагітності і підтримує успішний її перебіг [1–5]. Останнім часом було виявлено, що для збереження гестації необхідний не тільки прогестерон, але і його рецептори (RP), адже саме їхнє пошкодження є причиною 70 % випадків невиношування вагітності [6, 8–10].

Під час вагітності основним місцем синтезу прогестерону є плацента, науковий інтерес представляють плаценти жінок з передчасними пологам.

Передчасні пологи є не тільки медичною, а й соціальною проблемою, яка пов'язана з високими показниками перинатальної захворюваності та смертності передчасно народжених немовлят [7, 11–14]. Незважаючи на значний прогрес у медичній науці, частота передчасних пологів у світі залишається високою і коливається у межах 8–12 % [15–19].

Саме послід має високий інформативний потенціал і є найважливішим діагностичним об'єктом. Зміни плацентарних структур відіграють важливу роль у розвитку настання передчасної пологової діяльності. Інформація, що одержана під час його дослідження, абсолютно необхідна для повноцінного висновку про причини, механізм близьких і віддалених наслідків патології вагітності [20–25].

Мета дослідження: вивчення імуногістохімічних особливостей посліду у породіль із передчасними пологам у термінах 28–33 тиж.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для вирішення поставленої мети було обстежено 120 вагітних (основна група), які були госпіталізовані та розроджені у Перинатальному центрі м. Києва протягом 2018–2020 рр. у терміні гестації 23–33 тиж. Основна група була поділена на дві підгрупи залежно від терміну гестації: 1-а група – 23–28 тиж та 2-а група – 29–33 тиж.

До контрольної групи увійшли 40 жінок з фізіологічним перебігом одноплідної вагітності у терміні гестації 38–41 тиж.

Пацієнтки обстежуваних груп спостерігалися під час вагітності та народжували у Перинатальному центрі м. Києва у 2018–2020 рр.

Був проведений статистичний аналіз обмінних карт вагітних (форма 113/у), історій пологів вагітних (форма 096/0), карт розвитку новонароджених (форма 097/о) та результатів патологістологічних досліджень плацент усіх груп.

Виконували морфологічне та імуногістохімічне дослідження плацент після передчасних пологів у терміні гестації від 23 до 33 тиж.

Плаценти вивчали за протоколом, котрий включає дані органометричних, макроскопічних і мікроскопічних досліджень (форма № 013-2/0).

У дослідженні використали гістологічні методи (забарвлення гематоксином та еозином і за ван Гізоном), а також імуногістохімічний метод – непрямий стрептавідин-пероксидазний метод виявлення рівня експресії RP.

Протокол забарвлення: провели депарафінізацію та зневоднення тканини, промили буфером, обробили скло у Hydrogen Peroxide Block протягом 10 хв, промили буфером, нанесли реагент Ultra V block та інкубували протягом 5 хв. За кімнатної температури промили та нанесли первинні антитіла фірми Thermo (інкубація залежно від протоколу виробника), промили буфером, нанесли Primary Antibody Amplifier Quanto та інкубували протягом 10 хв. За кімнатної температури промили буфером, нанесли HRP Polymer Quanto та інкубували протягом 10 хв. За кімнатної температури промили буфером, додали 1 краплю (30 мл) DAB Chromogen Quanto до 1 мл DAB Substrate Quanto, перемішали та нанесли на зріз, інкубували протягом 5 хв. Для потрібного забарвлення промили дистильованою водою 4 рази [12, 13].

Поширеність та інтенсивність імуногістохімічної реакції оцінювали шляхом визначення кількості позитивно забарвлених ядер клітин на 100 клітин (у %).

Статистичне опрацювання виконали за допомогою прикладних програм MS® Excel® 2003™ та SigmaPlot® 13.0. Вірогідність даних для незалежних вибірок вираховували із застосуванням одновибіркового t-критерію Student. Рівень довіри під час розрахунку довірчих інтервалів визначали за методом нормального розподілу Вальда.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У результаті морфологічних та імуногістохімічних досліджень плацент у жінок, що народжували у терміні гестації 23–28 тиж (1-а група), у 40 % плацент виявлено передчасне дозрівання ворсин хоріона. Гістологічно відзначено збільшення числа типових термінальних ворсин, більшість з яких містили декілька вузьких капілярів у центрі стромы, що не відповідали спеціалізованому типу термінальних ворсин, які утворюються протягом останнього місяця вагітності, оскільки у нормі типові термінальні ворсини з'являються з 32-го тижня вагітності.

Ворсини досліджуваних плацент (23–28 тиж) мали більш щільну строму, що складається із великої кількості зрілих фіброblastів і колагенових пучків. Крім зменшення калібру і ущільнення стромы, у них зникають стромальні канали, хоча окремі клітини Кащенко–

Гофбауера можуть виявлятися в екстрацелюлярному матриці.

У субхоріальній і середній зоні плаценти домінують довгі ворсини з поодинокими термінальними гілками. Досить товстий епітелій у них представлений тільки синцитіотрофобластом, капіляри нечисленні, зазвичай вузькі, розташовані центрально і вміщують малу кількість еритроцитів.

Патологічна незрілість плаценти за варіантом хаотичних склерозованих ворсин була виявлена у 10 % випадків. Спостерігається невідповідне розгалуження дрібних ворсин, що утворюють скупчення або сітчасті структури, що не відповідають типовим термінальним ворсинам. На зрізах видно щільну строму з великою кількістю фібробластів. Також відзначено гіповаскуляризацію цих ворсин, позаяк у них виявлені лише поодинокі вузькі капіляри, часто пусті, без плодових еритроцитів. Вони ніби здавлені сполучною тканиною у стромі, що перешкоджає їхній синусоїдальній трансформації. Цим також пояснюється відсутність типових синцитіокапілярних мембран та компенсаторного ангіоматозу.

За рахунок місцевої гіпоксії відзначається відбірко-вий склероз дрібних ворсин, оскільки спостерігаються аваскулярні, хаотичні дрібні ворсини, які нерівномірно розподілені у плацентарній тканині разом з типовими термінальними гілками.

Порушення кровообігу у плаценті (крововиливи у децидуальну оболонку та міжворсинчастий простір) виявлено у 20 % випадків. У 4 % випадків відзначено відшарування плацент, що призвело до передчасних пологів. У 20 % плацент виявлено наявність гострої запальної інфільтрації у плодових оболонках, децидуальній та хоріальній оболонках.

Під час імуногістохімічного дослідження RP плацент у терміні 23–28 тиж відзначається невиражена реакція в епітелії та клітинах стромы стовбурових, проміжних та термінальних ворсин – 1 бал; у плодових оболонках та позаворсинчастому цитотрофобласті – 2 бали; в ендотелії судин – 0–1 бал.

У плацентах жінок, пологи в яких відбулися у термін 29–33 тиж (2-а група), відзначається передчасне дозрівання ворсин у 70 % випадків; 10 % плацент мають варіант проміжних диференційованих ворсин. Патологічна незрілість плаценти за варіантом хаотичних склерозованих ворсин виявлена у 20 % спостережень.

У частині спостережень відзначено виражений набряк стромы ворсин хоріона. У 45 % спостережень виявили наявність псевдоінфарктів ворсин, замурованих у фібриноїд, що займають значну площу.

Афункціональні зони були виявлені у 55 % спостережень. Вони представлені ділянками зближених ворсин, але зі збереженим епітелієм і без оточуючих їх прошарків фібриноїда. У 35 % плацент відзначали порушення кровообігу: розширення та повнокров'я судин; крововиливи у децидуальну оболонку та міжворсинчастий простір. Спостерігаються ділянки ворсин з розширенням судин та сладжуванням еритроцитів. У 15 % плацент відзначено наявність гострої запальної інфільтрації у плодових оболонках.

Під час імуногістохімічного дослідження RP у плацентарних структурах у термінах 29–33 тиж спостерігалася невиражена реакція в епітелії та клітинах стромы стовбурових, проміжних та термінальних ворсин – 1 бал; у плодових оболонках та позаворсинчастому цитотрофобласті – 1–2 бали; в ендотелії судин – 0–1 бал.

Імуногістохімічний аналіз плацентарного бар'єра виявив найбільшу експресію прогестеронових рецепторів у ядрах децидуальних клітин, що належать до материнської структури. Слід відзначити наявність експресії прогестеронових рецепторів у стовбурових ворсинах, фібробластах та ядрах стінки судин.

Виявлена мінімальна або відсутня експресія в ядрах інших ворсинчастих структур, їхніх судинах.

ВИСНОВКИ

Отже, рецептивність прогестерону має свої особливості у плацентарних структурах залежно від терміну гестації, що є важливим чинником у виборі тактики ведення цього контингенту вагітних з метою профілактики та зниження перинатальних втрат. Експресія прогестеронових рецепторів була здебільшого виражена у материнських структурах плацентарного бар'єра (ядрах децидуальних клітин), що свідчить про безсумнівний зв'язок структур плацентарно-ендометріальних взаємовідносин.

Перспективи подальших досліджень у цьому напрямку передбачають вивчення етіопатогенетичних механізмів загрози передчасних пологів.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Відомості про авторів

Ткаліч Василь Олександрович – канд. мед. наук, доцент, кафедра акушерства і гінекології № 1, Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ; тел.: (067) 797-05-22. *E-mail:* tkalichvo@ukr.net

ORCID: 0000-0002-3635-0243

Поладич Ірина Володимирівна – канд. мед. наук, асистент, кафедра акушерства і гінекології № 1, Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ

ORCID: 0000-0002-8494-2534

Information about authors

Tkalich Vasyl O. – MD, PhD, Associate Professor, Department of Obstetrics and Gynecology № 1, Bogomolets National Medical University, Kyiv; tel: (067) 797-05-22. *E-mail:* tkalichvo@ukr.net

ORCID: 0000-0002-3635-0243

Poladich Iryna V. – MD, PhD, Assistant, Department of Obstetrics and Gynecology № 1, Bogomolets National Medical University, Kyiv

ORCID: 0000-0002-8494-2534

ПОСИЛАННЯ

1. Arzhanova ON, Paykacheva YM. Hormonal support multiple pregnancy. J Obstet Gynecol Dis. 2009;LVIII(5):96-7.
2. Boychuk AG, Vakalyuk LM, Drogomiretsky LV, Lyubnets VO, Junger VI. Osoblivosti perebigu bagatoplidnoi vagitnosti pislya zastosuvannya dopomizhnikh reproductive tehnologiy. Med Soc. Probl Family. 2013;4:5-8.
3. Zharkikh AV, Lubomirskaya ES, Carpenter VA, Babinchuk EV. Zaporozhye Miscarriage problem in multiple pregnancies. Med J. 2013;4(79):78-80.
4. Kaminsky W, Suhanova AA, Sparrow LI. Bagatoplidna vagitnist pislya zastosuvannya dopomizhnikh reproductive tehnologiy. Osoblivosti perebigu vagitnostey iz samovilnoy she boxed reduktsiyu embrioniv. Women's Health. 2009;42(6):34-40.
5. Markovich, TE, Zarickij OO. Analiz perebigu gestacijnogo periodu ta uskladnen' pri bagatoplidnij vagitnosti. V: Zbirnik tez dopovidej III Mizhnar nauk-prakt konf studentiv ta molodih vchenih Aktualni pitannya teoretichnoi ta praktichnoi medicini; 2015 Kvit 23-24; Sumi. Sumi: SumDU; 2015. 329 p.
6. Menshikov W. Laboratory quality assurance. Preanalytical etap. Moskva: Znanie; 2009. 350 p.
7. Franka GA. Immunogistohimicheskie metody: rukovodstvo. Moskva; 2011. 224 p.
8. Saveliev GM, Karev EN, Klimentov MP, Kappusheva LM, Suknovalova MV. State reception of female hormones and effectiveness of in vitro fertilization. Questions Gynecol, Obstet Perinatol. 2011;10(1):24-8.
9. Suknovalova MV, Klimentov MP, Karev EN. The binding properties of progesterone and estradiol receptors with Duphaston in patients included in the program of in vitro fertilization. Herald of the Russian State Medical University. Special edition. 2011;1:217.
10. Shherbina MO, Kuzmina IYu, Plahotna IYu. Bagatoplidna vagitnist: metodichni vkazivki dlya samostijnoi roboti studentiv. Harkiv: HNNU; 2015. 16 p.
11. Gonzalez R. Prenatal priznachennya progesterone for Poperedjennia peredchasnih pologiv Sered zhinok Yakimov zagrozhuyut peredchasni canopies. RHL comment (stop redaktsiya 1 breast-2009r.). Geneva: WHO; 2009. 121 p.
12. Yasuhiko O, Tomomi S, Taisen I. Immunocytochemical Localization of Progesterone Receptor in the Reproductive Tract of Adult Female Rats. Biol Reprod. 2009;48:205-13. doi: 10.1095/biolreprod48.1.205.
13. Szekeres-Bartho J. Progesterone-receptor mediated immunomodulation and anti-abortive effects. The role of progesterone induced Blocking Factor (PIBF): V: Material IX World Congress of Gynec. Endocrinol. Solvey Pharmaceuticals Satellite Symposium; 2001 Dec 4; Kong Hong. Kong Hong; 2001. 26 p.
14. Morin L, Lim K, Diagnostic imaging committee; special contributor; genetics committee; maternal fetal medicine committee. Ultrasound in twin pregnancies. J Obstet Gynaecol Can. 2011;33(6):643-56. doi: 10.1016/S1701-2163(16)34916-7.
15. Hassani ME, Drissi J, Benali S, Habib AB, Kouach J, Moussaoui D. Delayed delivery in multiple pregnancy: about a case and literature review. Pan Afr Med J. 2020;36:373. doi: 10.11604/pamj.2020.36.373.19797.
16. Wierzejska RE. Review of Dietary Recommendations for Twin Pregnancy: Does Nutrition Science Keep Up with the Growing Incidence of Multiple Gestations? Nutr. 2022;14(6):1143. doi: 10.3390/nu14061143.
17. Benito Vielba M, De Bonrostro TC, Pallares AV, Herrero SR, Tejero Cabrejas EL, Campillos Maza JM. Delayed-interval delivery in twin pregnancies: report of three cases and literature review. J Matern Fetal Neonatal Med. 2019;32(2):351-5. doi: 10.1080/14767058.2017.1378336.
18. Mululem G, Wondim A, Woretaw A. The effect of pregnancy induced hypertension and multiple pregnancies on preterm birth in Ethiopia: a systematic review and meta-analysis. BMC Res Notes. 2019;12(1):91. doi: 10.1186/s13104-019-4128-0.
19. Suhag A, Berghella V. What's new in the multiple gestations literature? J Perinat Med. 2018;46(8):823-4. doi: 10.1515/jpm-2018-0304.
20. Townsend R, Khalil A. Outstanding clinical and research questions in complex twin and multiple pregnancy. Prenat Diagn. 2021;41(12):1482-5. doi: 10.1002/pd.6067.
21. Bergman L, Nordl f-Callbo P, Wikstr m AK, Snowden JM, Hesselman S, Edstedt Bonamy AK, et al. Share Multi-Fetal Pregnancy, Preeclampsia, and Long-Term Cardiovascular Disease. Hypertension. 2020;76(1):167-75.
22. Lama LD, Das T, Neupane A, Lama R, Pandey R, Karki U. Management of Quadriplelet Pregnancy: A Case Report. JNMA J Nepal Med Assoc. 2020;58(222):122-4. doi: 10.31729/jnma.4861.
23. Legro RS. Superovulation and multiple birth: in search of kryptonite. Fertil Steril. 2012;97(4):793-801. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.02.040.
24. Sendeku FW, Beyene FY, Tesfu AA, Bante SA, Azeze GG. Preterm birth and its associated factors in Ethiopia: a systematic review and meta-analysis. Afr Health Sci. 2021;21(3):1321-33. doi: 10.4314/ahs.v21i3.43.
25. Cao X, Zu D, Liu Y. Effects of Interaction Between Gestational Hypertension and History of Preterm Birth on the Risk of Preterm Birth: An Analysis Based on the National Vital Statistics System Database. Med Sci Monit. 2022;28:e935094. doi: 10.12659/MSM.935094.

Стаття надійшла до редакції 01.08.2022. – Дата першого рішення 05.08.2022. – Стаття подана до друку 16.09.2022