

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ВИЩИЙ ДЕРЖАВНИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД УКРАЇНИ
«БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ»**

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені Данила Галицького**

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ІЛІКА ВІТАЛІЙ ВАЛЕР'ЯНОВИЧ

УДК 611-013.85:618.39-021.3

**ДИСЕРТАЦІЯ
ПАТОЛОГІЧНА АНАТОМІЯ ХОРІОАМНІОНІТУ ТА БАЗАЛЬНОГО
ДЕЦИДУЇТУ ПРИ ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНІЙ АНЕМІЇ ВАГІТНИХ**

14.03.02 – патологічна анатомія

22 «Охорона здоров'я»

222 «Медицина»

Подається на здобуття наукового ступеня кандидат медичних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ В.В. Іліка

Науковий керівник:

Давиденко Ігор Святославович,
доктор медичних наук, професор

Чернівці – 2020

АНОТАЦІЯ

Ліка В.В. Патологічна анатомія хоріоамніоніту та базального децидуїту при залізодефіцитній анемії вагітних. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.02 (222. Медицина). – Вищий державний навчальний заклад України «Буковинський державний медичний університет», Чернівці, 2020.

Дисертація присвячена удосконалення патологоанатомічної діагностики хоріоамніоніту та базального децидуїту при залізодефіцитній анемії вагітних шляхом виявлення основних морфо-функціональних особливостей в плаценті на основі комплексного морфологічного дослідження. Вирішення поставленої проблеми та обґрунтування отриманих результатів було досягнуто завдяки макроскопічних, гістологічних, гістохімічних, імуногістохімічних, хемілюмінесцентних, морфометричних й статистичних методів дослідження.

Дослідження 198 плацент з гострим та хронічним хоріоамніонітом, а також базальним децидуїтом за умов залізодефіцитної анемії вагітних (ЗДАВ) та без неї, від породіль в терміні гестації 37 – 40 тижнів. В тому числі, з метою порівняння, вивчено плаценти фізіологічної вагітності та залізодефіцитної анемії вагітних без запалення.

У плацентах із хоріоамніонітом на тлі ЗДАВ органометричні показники маси, товщини та об'єму плаценти при гострому та хронічному перебігу (маса – $451,95 \pm 3,23$ г ($p < 0,001$), товщина – $2,6 \pm 0,09$ см ($p < 0,001$), об'єм – $682,4 \pm 27,75$ см³ ($p < 0,001$), а при хронічному – $453,48 \pm 3,64$ г ($p < 0,001$), $2,58 \pm 0,06$ см ($p < 0,05$) та $694,23 \pm 23,70$ см³, ($p < 0,001$) відповідно) були нижчі відносно спостережень з запаленням без ЗДАВ. При гострому та хронічному базальному децидуїті із коморбідною ЗДАВ також отримано дані про зниження показників маси, товщини та об'єму органа ($464 \pm 4,38$ г ($p = 0,001$), $2,55 \pm 0,11$ см ($p = 0,001$), $674,78 \pm 33,03$ см³ ($p < 0,001$) та $455,20 \pm 2,61$ г ($p < 0,001$), $2,53 \pm 0,10$ см ($p = 0,03$), $673,89 \pm 19,03$ см³, ($p = 0,04$) відповідно), проте площа материнської поверхні при

хронічному базальному децидуїті збільшувалася ($261,5 \pm 2,14$, $p < 0,001$), яка при запаленні без ЗДАВ ($245,43 \pm 2,06$, $p < 0,001$) була нижче порівняно із фізіологічною вагітністю.

Визначено збільшення при гострому хоріоамніоніті на тлі ЗДАВ питомого об'єму колагенових волокон у мезодермальній основі хоріальної пластинки ($14 \pm 0,4$, $p < 0,001$) порівняно із плацентами з запаленням без анемії, де показники були нижчі ($12 \pm 0,4$ %) відносно фізіологічної вагітності ($28 \pm 0,5$ %, де $p < 0,001$). При хронічному хоріоамніоніті на тлі ЗДАВ, збільшувався питомий об'єм мезодермальної основи хоріальної пластинки ($38 \pm 0,5$, $p < 0,001$ порівняно з запаленням без анемії), також було виявлено збільшення оптичної густини в усіх досліджуваних шарах хоріальної пластинки (мезодермальній основі амніона – $0,337 \pm 0,0029$ ($p < 0,001$), спонгіозному шарі хоріальної пластинки – $0,329 \pm 0,0021$ ($p < 0,001$) та у мезодермальній основі хоріальної пластинки – $0,338 \pm 0,0018$ ($p = 0,02$ порівняно з запаленням без анемії). При гострому базальному децидуїті питомий об'єм дорівнював $10 \pm 0,3$ ($p < 0,001$), а оптична густина – $0,196 \pm 0,0024$ ($p = 0,002$), при хронічному – $24 \pm 0,3$ ($p < 0,001$) та $0,224 \pm 0,0033$ ($p < 0,001$) відповідно.

Гістохімічним методом на «кислі» та «основні» білки з бромфеноловим синім за Mikel Calvo встановлено що на тлі ЗДАВ збільшувався коефіцієнт R/B в ендотеліоцитах ($1,56 \pm 0,021$, $p < 0,001$) і фібриноїді ($2,71 \pm 0,016$, $p < 0,001$) хоріальної пластинки при хронічному хоріоамніоніті, в децидуоцитах ($1,42 \pm 0,012$, $p = 0,014$) при гострому базальному децидуїті та в ендотеліоцитах ($1,46 \pm 0,022$, $p < 0,05$), фібриноїді ($2,89 \pm 0,022$, $p < 0,001$) та децидуоцитах ($2,14 \pm 0,018$, $p < 0,001$) базальної пластинки плаценти при хронічному.

Хемілюмінесцентним методом встановили, що при ЗДАВ зростала інтенсивності світіння нітропероксидів при гострому базальному децидуїті у децидуоцитах ($115 \pm 4,1$, $p = 0,004$), при хронічному хоріоамніоніті в ендотеліоцитах кровоносних судин ($133 \pm 4,5$ ум. од. св., $p = 0,001$), а при хронічному базальному децидуїті в ендотеліоцитах ($115 \pm 4,4$ ум. од. св., $p < 0,001$) та децидуоцитах ($164 \pm 4,5$, $p = 0,002$) відносно запалення без ЗДАВ.

Нінгідриново-шифововською реакцією на вільні аміногрупи білків за методом А. Yasuma та Т. Ichikava встановлено, що на тлі ЗДАВ підвищувалися процеси обмеженого протеолізу при гострому хоріоамніоніті в ендотеліоцитах ($0,229 \pm 0,0012$, $p < 0,001$), а хронічному – в ендотеліоцитах ($0,224 \pm 0,0015$, $p < 0,001$) та фібриноїді ($0,339 \pm 0,0036$, $p < 0,001$), при гострому базальному децидуїті в ендотеліоцитах ($0,220 \pm 0,0020$, $p < 0,001$), при хронічному – в ендотеліоцитах ($0,221 \pm 0,0021$, $p < 0,001$), фібриноїді ($0,341 \pm 0,0038$, $p < 0,001$) та децидуоцитах ($0,196 \pm 0,0024$, $p < 0,001$).

При імуногістохімічному визначенні рівня фактору von Willebrand у спостереженнях плацент з запаленням у поєднанні зі ЗДАВ підвищувався рівень фактору von Willebrand при усіх формах запалення в усіх структурах плаценти. Так, при гострому хоріоамніоніті на тлі ЗДАВ в ендотеліоцитах оптична густина складала – $0,386 \pm 0,0025$ ($p < 0,001$) та фібриноїді – $0,152 \pm 0,0028$ ($p < 0,001$), при хронічному хоріоамніоніті – $0,385 \pm 0,0027$ ($p < 0,001$) та $0,171 \pm 0,0036$ ($p < 0,05$) відповідно, при гострому базальному децидуїті – $0,408 \pm 0,0029$ та $0,170 \pm 0,0029$ ($p < 0,05$), при хронічному – $0,416 \pm 0,0032$ та $0,181 \pm 0,0034$ ($p < 0,05$) відповідно.

Імуногістохімічні показники рівня проапоптотичного білка Вах у синцитіотрофобласті хоріальних ворсинок плаценти при гострому хоріоамніоніті з коморбідною ЗДАВ вищі відносно плацент з запаленням без анемії та становили $0,234 \pm 0,0012$ ($p < 0,001$), з хронічним – $0,230 \pm 0,0014$ ($p < 0,001$), у спостереженнях гострого базального децидуїту на тлі анемії – $0,236 \pm 0,0016$, а хронічного – $0,249 \pm 0,0015$ ($p < 0,001$). У децидуоцитах базальної пластинки, рівень проапоптотичного протеїну Вах зростав тільки при хронічному базальному децидуїті ($0,254 \pm 0,0016$, $p < 0,001$).

Наукова новизна одержаних результатів полягає в наступному. Уперше встановлено, що залізодефіцитна анемія, хоч і спричиняє появу окремих морфологічних відмінностей у певних структурах плаценти залежно від форми запалення, але не впливає на склад запального інфільтрату.

Уперше визначено, що у плацентах при усіх формах плацентарного хоріоамніоніту та базального децидуїту на тлі залізодефіцитної анемії вагітних

відбувається зниження маси, товщини та об'єму відносно плацент з запаленням без анемії.

Також уперше з'ясовано, що у плацентах з гострим та хронічним плацентарним хоріоамніонітом на тлі залізодефіцитної анемії вагітних відносно плацент з запаленням без анемії зростають процеси колагеноутворення (збільшення у мезодермальній основі хоріальної пластинки питомого об'єму колагенових волокон при гострому хоріоамніоніті та ще й показників оптичної густини гістохімічного забарвлення при хронічному запаленні, підвищення кількісних параметрів оптичної густини в мезодермальній основі амніона та спонгіозному шарі при хронічному хоріоамніоніті); інтенсифікуються процеси обмеженого протеолізу в ендотеліоцитах кровоносних судин при гострому та хронічному хоріоамніоніті, а при хронічному запаленні ще й зростає хемілюмінесцентне світіння нітропероксидів в даних структурах з інтенсифікацією процесів окиснювальної модифікації білків та обмеженого протеолізу, підвищуються процеси обмеженого протеолізу у фібриноїді хоріальної пластинки; активуються апоптотичні процеси, про що свідчить зростанням вмісту протеїну Вах у синцитіотрофобласті хоріальних ворсинок плаценти; посилюється ендотеліальна дисфункція, яка виявляється у збільшенні показників оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на фактор von Willebrand в ендотеліоцитах кровоносних судин та у фібриноїді хоріальної пластинки при гострому хоріоамніоніті, ендотеліоцитах – при хронічному.

Уперше встановлено, що при гострому та хронічному базальному децидуїту на тлі залізодефіцитної анемії вагітних збільшуються показники питомого об'єму та оптична густина забарвлення колагенових волокон базальної пластинки, що свідчить про посилене утворення колагену; інтенсифікуються вільнорадикальні процеси, що проявляється високими показниками хемілюмінесцентного світіння нітропероксидів в децидуоцитах базальної пластинки при гострому та ще й у ендотеліоцитах кровоносних судин при хронічному запаленні, інтенсифікуються процеси окиснювальної модифікації білків, обмеженого протеолізу в ендотеліоцитах кровоносних судин при

гострому базальному децидуїті, а при хронічному ще й у фібриноїді та децидуоцитах базальної пластинки; посилюється ендотеліальна дисфункція з підвищенням вмісту фактора von Willebrand при гострому запаленні в ендотеліоцитах кровоносних судин, при хронічному – в ендотеліоцитах та фібриноїді, підвищується активність апоптозу про що свідчить зростання кількісних показників оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на проапоптотичного протеїну Вах у синцитіотрофобласті хоріальних ворсинок при усіх формах базального децидуїту, а також у децидуоцитах при хронічному запаленні.

Уточнені окремі аспекти патогенезу гострого та хронічного хоріоамніоніту, а також базального децидуїту при залізодефіцитній анемії вагітних. З'ясовано, що ключовим фактором формування морфологічних відмінностей запалення при залізодефіцитній анемії вагітних насамперед, є властива їй інтенсифікація вільнорадикальних процесів, що морфологічно виявляється у зростанні хемілюмінесценції нітропероксидів та інтенсифікацією процесів окиснювальної модифікації білків, які призводять до збільшення обмеженого протеолізу білків, з наступними вивільненням ендотеліального фактора von Willebrand та активацією процесів апоптозу, з чим пов'язані зміни органометричних показників плаценти.

Практична цінність роботи полягає в тому, що одержані дані про морфологічні особливості плацент при хоріоамніоніті та базальному децидуїті на тлі ЗДАВ розширюють та доповнюють інформаційну базу патоморфології плацентарної недостатності. Результати дослідження можуть бути застосовані у практичній роботі патологоанатомів у процесі діагностики запалення посліду від породіль зі ЗДАВ, акушерів – гінекологів, неонатологів, педіатрів при проведенні профілактичних, діагностичних і лікувальних заходів у жінок з ускладненою вагітністю.

Ключові слова: морфологічна діагностика запалення плаценти, хоріоамніоніт, базальний децидуїт, залізодефіцитна анемія вагітних.

SUMMARY

V.V.Ilika. Pathological anatomy of chorioamnionitis and basal deciduitis in pregnant women with iron deficiency anemia. – A qualifying scientific work printed as a manuscript.

The thesis for the degree of Candidate of Medical Sciences (Doctor of Philosophy) in the specialty 14.03.02 (222. Medicine). - Higher State Educational Institution of Ukraine “Bukovynian State Medical University”, Chernivtsi, 2020.

The thesis is devoted to the improvement of the morphological diagnostics of chorioamnionitis and basal deciduitis in pregnant women with comorbid iron deficiency anemia. The solution of the problem and justification of the obtained results were achieved due to a set of modern methods of research: histological, histochemical, immunohistochemical, chemiluminescent, morphometric and statistical methods of statistical processing of digital data.

There were examined 198 puerperants' placentas at gestational age of 37 – 40 weeks with acute and chronic chorioamnionitis, as well as basal deciduitis, with and without IDAPW. For the sake of comparison there were also studied the placentas of physiological pregnancy and iron deficiency anemia of pregnant women without inflammation.

In the placentas with chorioamnionitis against the background of iron deficiency anemia of pregnant women, the organometric parameters of the mass, thickness and volume of the placenta at the acute course were respectively 6 %, 13 % and 17 % lower in comparison with these data in the observations with inflammation without anemia (mass – $451,95 \pm 3,23$ g ($p < 0,001$), thickness – $2,6 \pm 0,09$ cm ($p < 0,001$), volume – $682,4 \pm 27,75$ cm³ ($p < 0,001$), and in chronic cases – 8 %, 15% and 17 %, respectively (mass– $453,48 \pm 3,64$ g ($p < 0,001$), thickness – $2,58 \pm 0,06$ cm ($p < 0,05$) and placental volume – $694,23 \pm 23,70$ cm³, $p < 0,001$). In acute basal deciduitis with comorbid IDAPW, the parameters of mass ($464 \pm 4,38$ g, $p = 0,001$), thickness ($2,55 \pm 0,11$ cm, $p = 0,001$) and organ volume ($674,78 \pm 33,03$ cm³, $p < 0,001$) were reduced by 4 %, 12 %, 14 % respectively, compared to inflammation without anemia, and in chronic cases the placental mass made up $455,20 \pm 2,61$ g, which is 6% less than the values of placenta with chronic basal deciduitis without anemia ($p < 0,001$), thickness - $2,53 \pm 0,10$ cm

($p=0,03$), which is 10 % less, the organ volume is $673,89 \pm 19,03 \text{ cm}^3$, where $p=0,04$, which is 7% less. The parameters of maternal surface area increased by 6,5% ($261,5 \pm 2,14$, $p<0,001$), which was 6,6 % lower in the cases with inflammation without anemia ($245,43 \pm 2,06$, $p<0,001$) compared to physiological pregnancy.

We have quantified the specific volume and optical density of the histochemical staining of collagen fibers in inflammation combined with IDAPW. In the cases of acute chorioamnionitis against the background of IDAPW, only specific volume in the mesodermal basis of the chorionic plate ($14 \pm 0,4$, $p<0,001$) increased compared to placenta with inflammation without anemia, where the indicators were lower ($12 \pm 0,4$ %) compared to physiological pregnancy ($28 \pm 0,5$ %, where $p<0,001$). In chronic chorioamnionitis against the background of iron deficiency anemia of pregnant women, the specific volume of the mesodermal base of the choral plate increased ($38 \pm 0,5$, where $p<0,001$ compared to inflammation without anemia), an increase in optical density was also detected in all layers of the chorionic plate under study (in mesodermal basis of amnion – $0,337 \pm 0,0029$ ($p<0,001$), spongy layer of the choral plate made up $0,329 \pm 0,0021$ ($p<0,001$) and mesodermal basis of the choral plate made up $0,338 \pm 0,0018$ ($p=0,02$ compared to inflammation without anemia). In the cases of both acute and chronic basal deciduitis there was intensified the formation of collagen in the basal plate compared to the cases of inflammation without anemia (in the cases of acute inflammation specific volume – $10 \pm 0,3$, ($p<0,001$), and optical density – $0,196 \pm 0,0024$ ($p=0,002$), in the cases of chronic one – $24 \pm 0,3$, where $p<0,001$ and $0,224 \pm 0,0033$, $p<0,001$, respectively).

The histochemical method of bromophenol blue staining of proteins into “acidic” and “basic” by Mikel Calvo revealed that in the cases of comorbid iron deficiency anemia of pregnant women, the processes of oxidative protein modification (by R/B ratio) intensified in the cases of chronic chorioamnionitis in endothelial cells ($1,5 \pm 6$, $p<0,001$) and fibrinoids ($2,71 \pm 0,016$, $p<0,001$) of the placental chorionic plate, in the cases of acute basal deciduitis only in decidualocytes ($1,42 \pm 0,012$, $p=0,014$) and in the cases of chronic one in endothelial cells ($1,46 \pm 0,022$, $p<0,05$), fibrinoids ($2,89 \pm 0,022$, $p<0,001$) and decidualocytes ($2,14 \pm 0,018$, $p<0,001$) of the basal plate of placenta.

The chemiluminescent method established that there was an increase of the quantitative indicators of the intensity of luminescence of nitroperoxides in the cases of

acute basal deciduitis in decidualocytes ($115 \pm 4,1$, $p=0,004$), of the endothelial cells of the blood vessels ($133 \pm 4,5$ relative fluorescence units, $p=0,001$) in the cases of chronic chorioamnionitis, as well as of the endothelial cells ($115 \pm 4,4$ relative fluorescence units, $p<0,001$) and decidualocytes ($164 \pm 4,5$, $p=0,002$) in the cases of chronic basal deciduitis compared to inflammation without anemia.

Due to the application of ninhydrin-Schiff reaction on free aminogroups of proteins by A.Yasuma and T.Ichikawa method it was established that against the background of iron deficiency anemia of pregnant women, the processes of limited proteolysis increased in the cases of acute chorioamnionitis in endothelial cells, ($0,229 \pm 0,0012$, $p<0,001$), in the cases of chronic one – in endothelial cells ($0,224 \pm 0,0015$, $p<0,001$) and fibrinoids ($0,339 \pm 0,0036$, $p<0,001$), in the cases of acute basal deciduitis in endothelial cells ($0,220 \pm 0,0020$, $p<0,001$), in the cases of chronic one – in endothelial cells ($0,221 \pm 0,0021$, $p<0,001$), fibrinoids ($0,341 \pm 0,0038$, $p<0,001$) and decidualocytes ($0,196 \pm 0,0024$, $p<0,001$).

Applying immunohistochemical determination of von Willebrand factor level in observations of the placentas with inflammation in combination with iron deficiency anemia of pregnant women, we obtained data showing an increase in von Willebrand factor level in all forms of inflammation in all structures of the chorionic and basal plates of the placenta. Thus, in acute chorioamnionitis against the background of anemia of pregnant women the optical density was equal to $0,386 \pm 0,0025$ ($p<0,001$) in endothelial cells and in fibrinoid – $0,152 \pm 0,0028$ ($p<0,001$), in the cases of chronic chorioamnionitis – $0,385 \pm 0,0027$ ($p<0,001$) and $0,171 \pm 0,0036$ ($p<0,05$), respectively, in the cases of acute basal deciduitis – $0,408 \pm 0,0029$ and $0,170 \pm 0,0029$ ($p<0,05$), in the cases of chronic one – $0,416 \pm 0,0032$ and $0,181 \pm 0,0034$ ($p<0,05$), respectively.

Immunohistochemical indices of the level of the proapoptotic protein Bax in the syncytiotrophoblast of the chorionic villi of the placenta in comorbid iron deficiency anemia of pregnant women in the placentas with acute chorioamnionitis are higher than the values of the placentas with inflammation without anemia and made up $0,234 \pm 0,0012$ ($p<0,001$), with chronic chorioamnionitis – $0,230 \pm 0,0014$ ($p<0,001$), in observations of acute basal deciduitis against the background of anemia – $0,236 \pm 0,0016$, and chronic one – $0,249 \pm 0,0015$ ($p<0,001$). In the decidualocytes of the placenta basal plate, the placental expression parameters of pro-apoptotic protein Bax

studied in various forms of basal deciduitis increased only in the observations of the chronic basal deciduitis cases ($0,254 \pm 0,0016$, $p < 0,001$).

The scientific novelty of the obtained results. It is established that iron deficiency anemia causes some morphological differences in certain structures of the placenta depending on the form of inflammation, but anemia does not affect the composition of the inflammatory infiltrate.

For the first time, it is established that in all forms of chorioamnionitis and basal deciduitis the organometric parameters of mass, thickness and volume concerning the placenta with inflammation without anemia are reduced against the background of iron deficiency anemia of pregnant women.

Scientific novelty of the obtained results. For the first time it is found that iron deficiency anemia, although it causes some morphological differences in certain structures of the placenta depending on the form of inflammation, does not affect the composition of inflammatory infiltrate. For the first time it is determined that in placentas in all forms of placental chorioamnionitis and basal deciduitis on the background of iron deficiency anemia in pregnant women there is a decrease in weight, thickness and volume comparing to the placentas with inflammation without anemia.

It is also found for the first time that in placentas with acute and chronic placental chorioamnionitis on the background of iron deficiency anemia of pregnant women comparing to the placentas with inflammation without anemia, collagen formation processes increase (increase of specific volume of collagen fibers in mesodermal basis of chorionic plate in cases of acute densities and also indicators of optical density of histochemical staining in the case of chronic inflammation, increase of quantitative parameters of optical density in a mesodermal basis of an amnion and a spongy layer in the case of chronic chorioamnionitis); processes of limited proteolysis in endothelial cells of blood vessels in acute and chronic chorioamnionitis intensify, and in chronic inflammation the chemiluminescent glow of nitroperoxides also increases in these structures with intensification of processes of oxidative modification of proteins and limited proteolysis, processes of limited proteolysis in fibrino dichorionic plate increase; apoptotic processes are activated, as evidenced by the increase in the content of Bax protein in the syncytiotrophoblast of the chorionic villi of the placenta; endothelial dysfunction increases, which is manifested by an increase in the optical

density of immunohistochemical staining by von Willebrand factor in vascular endotheliocytes and in the chorionic plate fibrinoid in case of acute chorioamnionitis, endotheliocytes - in the case of chronic chorioamnionitis.

For the first time it is found that in cases of acute and chronic basal deciduitis on the background of iron deficiency anemia in pregnant women the specific volume and optical density of color of collagen fibers of the basal plate increases, indicating increased collagen formation; free radical processes are intensified, which is manifested by high chemiluminescent luminescence of nitroperoxides in decidualocytes of the basal plate in acute inflammation and also in endotheliocytes of blood vessels in chronic inflammation, processes of oxidative modification of proteins, limited proteolysis in endotheliocytes of blood vessels in the case of acute basal deciduitis, and in fibrinoid and decidualocytes of a basal plate in the case of chronic basal deciduitis also intensify; endothelial dysfunction increases with increasing content of von Willebrand factor in endotheliocytes of blood vessels in acute inflammation, in endotheliocytes and fibrinoid in chronic inflammation, the activity of apoptosis increases as evidenced by the increase in the quantitative indicators of optical density of immunohistochemical staining of all deciduitis, as well as in decidualocytes in case of chronic inflammation.

Some aspects of the pathogenesis of acute and chronic chorioamnionitis, as well as basal deciduitis in the case of iron deficiency anemia in pregnant women have been clarified. It is found that the key factor in the formation of morphological differences in inflammation in case of iron deficiency anemia of pregnant women is primarily its inherent intensification of free radical processes, which is morphologically manifested in the increase of chemiluminescence of nitroperoxides and intensification of oxidative modification of proteins, which lead to increased limited proteolysis of proteins, followed by release of endothelial factor von Willebrand and activation of apoptosis processes, which are associated with changes in organometric parameters of the placenta.

Key words: morphological diagnosis of placental inflammation, chorioamnionitis, basal deciduitis, iron deficiency anemia of pregnant women.

Список публікацій здобувача за темою дисертації:

1. Іліка ВВ, Давиденко ІС, Давиденко ОМ. Гістохімічна оцінка процесів окиснювальної модифікації білків в ендотеліоцитах кровоносних судин базальної пластинки плаценти при поєднанні запалення посліду та залізодефіцитної анемії вагітних. Клінічна та експериментальна патологія. 2016;15(4):54–7.
2. Іліка ВВ, Давиденко ІС, Давиденко ОМ. Гістохімічна оцінка процесів окиснювальної модифікації білків у фібриноїді базальної пластинки плаценти при поєднанні запалення посліду та залізодефіцитної анемії вагітних. Клінічна анатомія та оперативна хірургія. 2016;15(4):48–51. doi: <https://doi.org/10.24061/1727-0847.15.4.2016.95>
3. Іліка ВВ, Давиденко ІС, Давиденко ОМ. Гістохімічна оцінка процесів окиснювальної модифікації білків у децидуальних клітинах базальної пластинки плаценти при поєднанні запалення посліду та залізодефіцитної анемії вагітних. Буковинський медичний вісник. 2017;21(1):54–7. doi: <https://doi.org/10.24061/2413-0737.XXI.1.81.2017.11>
4. Ilika VV, Davydenko IS. Von Willebrand factor immunohistochemical staining quantitative optical density parameters in the endothelium and fibrinoid of the placenta during secundines inflammation and concomitant iron deficiency anemia in gravidas. Georgian Med News. 2017;12:108–13.
5. Іліка ВВ. Кількісні характеристики обмеженого протеолізу в ендотеліоцитах кровоносних судин плаценти при поєднанні запалення посліду та залізодефіцитної анемії вагітних. Український журнал медицини, біології та спорту. 2018;3(1):36–9. doi: <https://doi.org/10.26693/jmbs03.01.036>
6. Іліка ВВ, Давиденко ІС. Хемілюмінесцентне дослідження нітропероксидів у структурах плаценти при хоріонамніоніті та базальному децидуїті з залізодефіцитною анемією вагітних. Український журнал

медицини, біології та спорту. 2018;3(5):36–40. doi: <https://doi.org/10.26693/jmbs03.05.036>

7. Іліка ВВ, Давиденко ІС. Результати органометричного дослідження плацент та гістохімічного дослідження колагенових волокон при хоріонамніоніті та базальному децидуїті в поєднанні з залізодефіцитною анемією вагітних. Вісник морської медицини. 2018;3:109–16. doi: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.1450851>

8. Іліка ВВ, Давиденко ІС. Імуногістохімічне вивчення проапоптотичного протеїну Вах в децидуоцитах базальної пластинки плаценти при базальному децидуїті в поєднанні з залізодефіцитною анемією вагітних. Український журнал медицини, біології та спорту. 2018;3(7):9–13. doi: <https://doi.org/10.26693/jmbs03.07.009>

9. Іліка ВВ, Давиденко ІС. Морфологічна оцінка вільнорадикальних процесів у структурі плаценти при хоріонамніонітах поєднаних із анемією вагітних. Українські медичні вісті. 2014;11(1–4):472.

10. Іліка ВВ, Давиденко ІС. Хемілюмінесцентне дослідження нітропероксидів в осередку запалення при хоріонамніоніті та базальному децидуїті у вагітних із залізодефіцитною анемією. В: Кравченко ОВ, редактор. Матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю: до 100-річчя з дня народження проф. Борими Т.В. Перспективні напрямки розвитку сучасної перинатології; 2014 Жов 16; Чернівці. Чернівці: Медуніверситет; 2014, с. 108–11.

11. Илика ВВ. Сравнительная характеристика процессов окислительной модификации белков в фибриноиде и эндотелиоцитах кровеносных сосудов базальной пластинки плаценты при хроническом базальном децидуите в сочетании с железodefицитной анемией беременных. В: Шамсиев АМ, редактор. Материалы 70 науч. конф. студентов-медиков с междунар. участием Актуальные проблемы современной медицины; 2016 Май 27; Самарканд. Самарканд; 2016, с. 265–6.

12. Илика ВВ, Давыденко ИС. Изучение процессов окислительной модификации белков с оценкой соотношения между аминок- и карбоксильными группами при воспалении плаценты в сочетании с железодефицитной анемией беременных. Наука и здравоохранение. 2016;2(Спецвып):82.

13. Іліка ВВ. Гістохімічна оцінка процесів окиснювальної модифікації білків в децидуоцитах базальної пластинки плаценти при гострому базальному децидуїті з залізодефіцитною анемією вагітних. В: Бойчук ТМ, Іващук ОІ, Безрук ВВ, редактори. Матеріали 97-ї наук. конф. професорсько-викладацького персоналу Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет»; 2016 Лют 15, 17, 22; Чернівці. Чернівці: 2016, с. 14.

14. Іліка ВВ. Гістохімічна оцінка процесів окиснювальної модифікації білків в децидуоцитах базальної пластинки плаценти при хронічному базальному децидуїті з залізодефіцитною анемією вагітних. В: Бойчук ТМ, Іващук ОІ, Безрук ВВ, редактори. Матеріали 97-ї наук. конф. професорсько-викладацького персоналу Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет»; 2016 Лют 15, 17, 22; Чернівці. Чернівці: 2016, с. 15.

15. Илика ВВ. Морфологические подходы к измерению уровня фактора von Willebrandt в эндотелиоцитах кровеносных сосудов хориальной пластинки плаценты при воспалении в сочетании с железодефицитной анемией беременных. В: Материалы XVII междунар. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых и II Форума молодеж. науч. обществ Студенческая медицинская наука XXI века. II Форум молодежных научных обществ; 2017 Ноя 15–16; Витебск. Витебск: ВГМУ; 2017. Ч 1, с. 298.

16. Іліка ВВ. Кількісні параметри оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на фактор von Willebrand в ендотеліоцитах хоріальної пластинки плаценти при хоріонамніоніті у поєднанні з

залізодефіцитною анемією вагітних. Клінічна та експериментальна патологія. 2017;16(3 Ч 1):45.

17. Илика ВВ. Апоптоз в децидуоцитах базальной пластинки плаценты при базальном децидуите в сочетании с железodefицитной анемией беременных. Проблемы биологии и медицины. 2018;2,1:318

18. Іліка ВВ. Гістохімічне вивчення процесів обмеженого протеолізу в фібриноїді хоріальної пластинки плаценти при поєднанні запалення посліду та залізодефіцитної анемії вагітних. В: Корда ММ, редактор. Матеріали 22 міжнар. медичного конгресу студентів та молодих вчених; 2018 Кві 23–25; Тернопіль. Тернопіль: Укрмедкнига; 2018, с. 311.

19. Іліка ВВ. Кількісне дослідження інтенсивності світіння нітропероксидів у ендотеліоцитах хоріальної пластинки плаценти при хоріонамніоніті в поєднанні з залізодефіцитною анемією вагітних. ВІМСО Journal. 2018;2018:276.

20. Давиденко ІС, Давиденко ОМ, Гарвасюк ОВ, Мироник ОВ, Іліка ВВ, Попович АІ, та ін., винахідники; Вищий державний навчальний заклад України «Буковинський державний медичний університет», патентовласник. Спосіб дослідження окиснювальної модифікації білків в лейкоцитах. Патент України № 116109. 2017 Тра 10.

21. Давиденко ІС, Давиденко ОМ, Іліка ВВ. Спосіб дослідження окиснювальної модифікації білків в лейкоцитах. Перелік наукової (науково-практичної) продукції, призначеної для впровадження досягнень медичної науки у сфері охорони здоров'я. 2018;4:257–8.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	19
ВСТУП.....	20
РОЗДІЛ 1 СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО ОСОБЛИВОСТІ ЗАПАЛЕННЯ ПЛАЦЕНТИ ПРИ ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНІЙ АНЕМІЇ ВАГІТНИХ (Огляд літератури).....	28
1.1 Морфологічні особливості запалення плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних.....	28
1.2 Особливості патогенезу запалення плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних.....	37
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	52
2.1 Дизайн дослідження.....	52
2.2 Методи дослідження.....	55
2.2.1 Органометричне дослідження плацент.....	55
2.2.2 Оглядові гістологічні методи.....	57
2.2.3 Гістохімічні, імуногістохімічні та хемілюмінесцентні методи дослідження.....	57
2.2.4 Морфометричні методи дослідження.....	59
2.2.5 Статистичні методи обробки матеріалу.....	60
2.3 Результати статистичного аналізу випадків хоріоамніоніту, базального децидуїту та залізодефіцитної анемії вагітних у Чернівецькій області за 5 років (2013 – 2017 р. р.)	61
РОЗДІЛ 3 МОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПЛАЦЕНТ ПРИ ФІЗІОЛОГІЧНІЙ ВАГІТНОСТІ ТА ВІД ПОРОДІЛЬ ІЗ ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНОЮ АНЕМІЄЮ БЕЗ ОЗНАК ХОРІОАМНІОНІТУ ТА БАЗАЛЬНОГО ДЕЦИДУЇТУ.....	64
3.1 Морфологічна характеристика плацент при фізіологічній вагітності.....	64
3.2 Морфологічна характеристика плацент від породіль із	

залізодефіцитною анемією без ознак хоріоамніоніту та базального децидуїту.....	78
РОЗДІЛ 4 МОРФОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ПЛАЦЕНТ ІЗ ГОСТРИМ ХОРІОАМНІОНІТОМ ЗА УМОВ ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНОЇ АНЕМІЇ	90
ВАГІТНИХ.....	
4.1 Гістологічне й органометричне дослідження плацент.....	90
4.2 Гістохімічне та хемілюмінесцентне дослідження плацент.....	94
4.3 Імуногістохімічне дослідження плацент	101
РОЗДІЛ 5 МОРФОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ПЛАЦЕНТ ІЗ ХРОНІЧНИМ ХОРІОАМНІОНІТОМ ЗА УМОВ ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНОЇ АНЕМІЇ ВАГІТНИХ.....	105
5.1 Гістологічне й органометричне дослідження плацент.....	105
5.2 Гістохімічне та хемілюмінесцентне дослідження плацент.....	108
5.3 Імуногістохімічне дослідження плацент.....	118
РОЗДІЛ 6 МОРФОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ПЛАЦЕНТ ІЗ ГОСТРИМ БАЗАЛЬНИМ ДЕЦИДУЇТОМ ЗА УМОВ ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНОЇ АНЕМІЇ ВАГІТНИХ.....	124
6.1 Гістологічне й органометричне дослідження плацент.....	124
6.2 Гістохімічне та хемілюмінесцентне дослідження плацент.....	126
6.3 Імуногістохімічне дослідження плацент.....	133
РОЗДІЛ 7 МОРФОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ПЛАЦЕНТ ІЗ ХРОНІЧНИМ БАЗАЛЬНИМ ДЕЦИДУЇТОМ ЗА УМОВ ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНОЇ АНЕМІЇ ВАГІТНИХ.....	138
7.1 Гістологічне й органометричне дослідження плацент.....	138
7.2 Гістохімічне та хемілюмінесцентне дослідження плацент.....	140
7.3 Імуногістохімічне дослідження плацент.....	152
РОЗДІЛ 8 АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	158

ВИСНОВКИ.....	186
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	190
ДОДАТОК А Патент на корисну модель	225
ДОДАТОК Б Галузеве нововведення	227
ДОДАТОК В Акти впровадження.....	230
ДОДАТОК Г Відомості про апробацію результатів дисертації.....	237
ДОДАТОК Д Наукові публікації надруковані за темою дисертації.....	239
ДОДАТОК Е Результати гістохімічної методика на загальний білок з бромфеноловим синім за Бонхегом.....	245

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

АФК	– активні форми кисню
БД	– базальний децидуїт
БП	– базальна пластинка
відн. од. опт. густ.	– відносні одиниці оптичної густини
ВР	– вільні радикали
ЗДАВ	– залізодефіцитна анемія вагітних
МОА	– мезодермальна основа амніона
МОХП	– мезодермальна основа хоріальної пластинки
ОМБ	– окиснювальна модифікація білків
ПОЛ	– перекисне окиснення ліпідів
ПЯЛ	– поліморфноядерні лейкоцити
СШ	– спонгіозний шар
ХА	– хоріоамніоніт
ХП	– хоріальна пластинка

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Питання забезпечення репродукції людини залишається актуальним останні кілька десятиріч, а в багатьох країнах, зокрема й в Україні в останні роки загострюється все більше [82]. Одним із аспектів вищезазначеного питання є вирішення проблеми плацентарної недостатності, зокрема, тієї, що спричинена запаленням посліду, яке трапляється доволі часто [4, 5]. Так, за даними світової літератури частота хоріоамніоніту коливається у діапазоні 2,4-20,5 %, а базального децидуїту – 4,8-8,9 % вагітностей, а при передчасних пологах вказана патологія зростає в 1,5 – 3 рази [93]. Слід зауважити, що причину виникнення запалення плаценти не варто розглядати виключно в ракурсі інфекційного процесу. За даними літератури, запалення плаценти має поліетіологічну природу. Крім інфекційного генезу може бути ішемічного або ж імунного походження [112, 132]. Що ж до інфекційного аспекту запалення посліду, то останнім часом визнають його полімікробну, мікст-інфекційну етіологію [86, 175]. Ще більш частою патологією вагітності є залізодефіцитна анемія вагітних (ЗДАВ), при цьому частота її становить 24,8 – 80,0% серед вагітних, а в породіль – 20 – 40% [1, 7, 81]. Варто зазначити, що патоморфологічним особливостям плаценти при запаленні, зокрема хоріоамніоніті та базальному децидуїті, а також морфології плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних присвячено чимало наукових праць, проте особливості змін у плаценті при поєднанні цих станів залишаються не вивченими.

Як при запаленні плаценти, так і ЗДАВ практично завжди реєструються ті чи інші ознаки недостатності посліду, що може мати несприятливі наслідки для плода [46, 191, 192, 193, 222, 228]. Окрім цього, між гіпоксією і запаленням існує міцний перехресний зв'язок. Запалення створює гіпоксичні умови через підвищену метаболічну активність, гіпоксія в місці запалення може спричинити ушкодження судин, коагуляцію крові та блокування кровотоку, а в подальшому – некроз тканини [224]. Щодо цього в сучасній

літературі є дослідження, спрямовані на вивчення впливу запального процесу на клінічний перебіг ЗДАВ [103, 105], проте жодної інформації про морфологічні прояви в плаценті при коморбідності цих станів у вивченій науковій літературі не виявлено.

Також відомо, що як при запаленні, так і при ЗДАВ активізуються вільнорадикальні процеси. Це потенційно може спричинити їхнє взаємне обтяження і розвиток більш тяжкої патології плаценти. Існують дані, що реактивні окиснювачі регулюють транскрипцію генів, процеси проліферації трофобластів, інвазії та ангіогенезу, а їх надлишок, шкодить нормальному розвитку плаценти [214, 223, 259]. Дисбаланс між виникненням реактивних форм кисню та здатністю антиоксидантів інгібувати окисне ушкодження зумовлює пошкодження макромолекул, а отже порушення функції клітин плаценти, дефекти обміну поживними речовинами між матір'ю та плодом [254]. Описані у вітчизняній і світовій літературі випадки не висвітлюють усіх патоморфологічних змін у плаценті, викликаних вільними радикалами як при запаленні, так і при залізодефіцитній анемії. Не знайдено також жодних даних і при поєднанні цих станів. Зокрема, залишається на даний час не вивчений стан нітропероксидів в осередках запалення та поза ними при ЗДАВ, не вивчені процеси окиснювальної модифікації білків та обмеженого протеолізу.

Отже, удосконалення патологоанатомічної діагностики запалення плаценти при ЗДАВ є актуальною проблемою сучасної медицини і потребує вирішення для покращення питань репродукції людини.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами
Дисертаційна робота є фрагментом планової науково-дослідницької роботи кафедри патологічної анатомії ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет»: «Морфологічні аспекти патології плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних» (номер державної реєстрації 0114U004125; термін виконання 2014 – 2018 роки).

Тема дисертаційної роботи затверджена на засіданні вченої ради Буковинського державного медичного університету 30 квітня 2014 р., протокол № 8, та Проблемною комісією МОЗ та НАМН України «Патологічна анатомія. Судова медицина» від 8 грудня 2014 р., протокол № 35.

Мета дослідження: удосконалення патологоанатомічної діагностики хоріоамніоніту та базального децидуїту при залізодефіцитній анемії вагітних шляхом виявлення основних морфо-функціональних особливостей у плаценті на основі комплексного морфологічного дослідження.

Завдання дослідження:

1. З'ясувати клітинний склад запальних інфільтратів у плаценті при залізодефіцитній анемії вагітних залежно від локалізації та тривалості процесу.
2. Встановити макроскопічні, гістологічні, хемілюмінесцентні, гістохімічні та імуногістохімічні особливості гострого хоріоамніоніту за умов залізодефіцитної анемії вагітних.
3. Дослідити макроскопічні, гістологічні, хемілюмінесцентні, гістохімічні та імуногістохімічні особливості хронічного хоріоамніоніту за умов залізодефіцитної анемії вагітних.
4. Визначити макроскопічні, гістологічні, хемілюмінесцентні, гістохімічні та імуногістохімічні особливості гострого базального децидуїту за умов залізодефіцитної анемії вагітних.
5. Вивчити макроскопічні, гістологічні, хемілюмінесцентні, гістохімічні та імуногістохімічні особливості хронічного базального децидуїту за умов залізодефіцитної анемії вагітних.
6. В осередках запалення плаценти виявити спільні механізми розвитку змін, спричинених залізодефіцитною анемією вагітних.

Об'єкт дослідження – запалення плаценти у вагітних з залізодефіцитною анемією.

Предмет дослідження – морфологічні зміни плацент з хоріоамніонітом та базальним децидуїтом від жінок із залізодефіцитною анемією вагітних.

Методи дослідження: макроскопічні; гістологічні та гістохімічні дослідження; імуногістохімічні дослідження; хемілюмінесцентні дослідження; морфометричні дослідження; статистичне опрацювання отриманих результатів.

Наукова новизна одержаних результатів

Уперше встановлено, що залізодефіцитна анемія, хоч і спричиняє появу окремих морфологічних відмінностей у певних структурах плаценти залежно від форми запалення, але не впливає на склад запального інфільтрату.

Уперше визначено, що у плацентах при усіх формах плацентарного хоріоамніоніту та базального децидуїту на тлі залізодефіцитної анемії вагітних відбувається зниження маси, товщини та об'єму відносно плацент з запаленням без анемії.

Також уперше з'ясовано, що у плацентах з гострим та хронічним плацентарним хоріоамніонітом на тлі залізодефіцитної анемії вагітних відносно плацент з запаленням без анемії зростають процеси колагеноутворення (збільшення у мезодермальній основі хоріальної пластинки питомого об'єму колагенових волокон при гострому хоріоамніоніті та ще й показників оптичної густини гістохімічного забарвлення при хронічному запаленні, підвищення кількісних параметрів оптичної густини в мезодермальній основі амніона та спонгіозному шарі при хронічному хоріоамніоніті); інтенсифікуються процеси обмеженого протеолізу в ендотеліоцитах кровоносних судин при гострому та хронічному хоріоамніоніті, а при хронічному запаленні ще й зростає хемілюмінесцентне світіння нітропероксидів в даних структурах з інтенсифікацією процесів окиснювальної модифікації білків та обмеженого протеолізу, підвищуються процеси обмеженого протеолізу у фібриноїді хоріальної пластинки; активуються апоптотичні процеси, про що свідчить зростанням вмісту протеїну Вах у синцитіотрофобласті хоріальних ворсинок плаценти; посилюється ендотеліальна дисфункція, що проявляється збільшенням показників оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на фактор von

Willebrand в ендотеліюцитах кровоносних судин та у фібриноїді хоріальної пластинки при гострому хоріоамніоніті, ендотеліюцитах – при хронічному.

Уперше встановлено, що при гострому та хронічному базальному децидуїті на тлі залізодефіцитної анемії вагітних збільшуються показники питомого об'єму та оптична густина забарвлення колагенових волокон базальної пластинки, що свідчить про посилене утворення колагену; інтенсифікуються вільнорадикальні процеси, що проявляється високими показниками хемілюмінесцентного світіння нітропероксидів в децидуоцитах базальної пластинки при гострому та ще й у ендотеліюцитах кровоносних судин при хронічному запаленні, інтенсифікуються процеси окиснювальної модифікації білків, обмеженого протеолізу в ендотеліюцитах кровоносних судин при гострому базальному децидуїті, а при хронічному ще й у фібриноїді та децидуоцитах базальної пластинки; посилюється ендотеліальна дисфункція з підвищенням вмісту фактора von Willebrand при гострому запаленні в ендотеліюцитах кровоносних судин, при хронічному – в ендотеліюцитах та фібриноїді, підвищується активність апоптозу про що свідчить зростання кількісних показників оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на проапоптотичного протеїну Вах у синцитіотрофобласті хоріальних ворсинок при усіх формах базального децидуїту, а також у децидуоцитах при хронічному запаленні.

Уточнені окремі аспекти патогенезу гострого та хронічного хоріоамніоніту, а також базального децидуїту при залізодефіцитній анемії вагітних. З'ясовано, що ключовим фактором формування морфологічних відмінностей запалення при залізодефіцитній анемії вагітних насамперед, є властива їй інтенсифікація вільнорадикальних процесів, що морфологічно виявляється у зростанні хемілюмінесценції нітропероксидів та інтенсифікацією процесів окиснювальної модифікації білків, які призводять до збільшення обмеженого протеолізу білків, з наступними вивільненням ендотеліального фактора von Willebrand та активацією процесів апоптозу, з чим пов'язані зміни органометричних показників плаценти.

Практичне значення одержаних результатів

Практична цінність роботи полягає в тому, що одержані дані про морфологічні особливості плацент при хоріоамніоніті та базальному децидуїті у поєднанні зі ЗДАВ розширюють та доповнюють інформаційну базу патоморфології плацентарної недостатності. Результати дослідження можуть бути застосовані у практичній роботі патологоанатомів у процесі діагностики запалення посліду від породіль зі ЗДАВ, акушерів – гінекологів, неонатологів, педіатрів при проведенні профілактичних, діагностичних і лікувальних заходів у жінок з ускладненою вагітністю.

На підставі проведених досліджень розроблено та отримано патент на корисну модель «Спосіб дослідження окиснювальної модифікації білків у лейкоцитах» (декларційний патент на корисну модель № 116109, Україна. МПК А61В 10/00. Заявл. 09.11.2016. Опубл. 10.05.2017. Бюл. № 9 (додаток А), та галузеве нововведення «Спосіб дослідження окиснювальної модифікації білків у лейкоцитах», 2018 (додаток Б).

Результати дослідження упроваджено у навчальний процес кафедри патологічної анатомії Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет», кафедри патологічної анатомії та судової медицини Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, ДЗ «Дніпропетровська медична академія Міністерства охорони здоров'я України», кафедри патоморфології та судової медицини ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет», у практичну роботу патологоанатомічних відділень Чернівецької обласної комунальної установи «Патологоанатомічне бюро», КЗ ЛОР «Львівське обласне патологоанатомічне бюро», пологового та гінекологічного відділення Сторожинецької ЦРЛ Чернівецької області (додаток В).

Особистий внесок здобувача

Спільно з науковим керівником визначена тема дисертаційної роботи, сформульована мета та завдання дослідження. Дисертантом проведений

аналіз наукової літератури за темою дисертації, патентно-інформаційний пошук, статистичний аналіз даних у Чернівецькій області та в Україні. На підставі проведеного аналізу літератури автором визначені напрямки наукового пошуку.

Особисто здійснено набір матеріалу для морфологічного дослідження та проведено ретроспективний аналіз карт вагітних. Макроскопічні, загальногістологічні, гістохімічні дослідження, представлені у дисертаційній роботі, а також статистичну обробку цифрових даних автором здійснено й опрацьовано самостійно. Разом з науковим керівником виконано імуногістохімічні методи дослідження. Усі розділи дисертації, висновки та практичні рекомендації сформульовані та написані автором самостійно. У наукових публікаціях у співавторстві викладений матеріал здобувача.

Загальне керівництво науковим дослідженням здійснено д.мед.н., професором І. С. Давиденком.

Апробація результатів дисертації

Основні положення дисертаційної роботи разом з висновками оприлюднені на міжнародному медико-фармацевтичному конгресі студентів та молодих учених (Чернівці, 2014 – 2018 р.р.), 96 – 99 підсумкових наукових конференціях професорсько-викладацького складу БДМУ (Чернівці, 2014 – 2017 р.р.), міжнародній науково-практичній конференції студентів та молодих учених «Актуальні питання теоретичної та практичної медицини» (Суми, 23 – 24 квітня 2015 р.), науково-практичній інтернет-конференції з міжнародною участю «Значення морфологічних наук на сучасному етапі розвитку медицини» (Чернівці, 26 – 27 листопада 2014 р.), 70 науковій конференції студентів-медиків «Актуальні проблеми сучасної медичної науки» (Республіка Узбекистан, Самарканд, 27 травня 2016 р.), міжнародній науково-практичній конференції молодих учених «Наука і здоров'я», присвяченій 75-річчю Президента Асоціації оториноларингологів Республіки Казахстан, академіка Національної Академії Наук Республіки Казахстан, д.мед.н., проф. Толебаєва Райса Кажкеновича (Республіка Казахстан, Семей, 22 квітня 2016 р.), XVII

міжнародній науково-практичній конференції студентів та молодих учених і II форумі молодіжних наукових товариств (Вітебськ, 15 – 16 листопада 2017 р).

Відомості про апробацію результатів дослідження наведені в додатку Г.

Публікації

За темою дисертаційної роботи опубліковано 21 працю, з них 7 статей у наукових фахових виданнях, рекомендованих МОН України та включених до міжнародних наукометричних баз, одна стаття у зарубіжному виданні, внесеному в базу даних SCOPUS, 11 робіт – у матеріалах всеукраїнських та міжнародних науково-практичних конференцій і конгресів, отримано один деклараційний патент України на корисну модель та одне галузеве нововведення. Перелік усіх публікацій із вказівкою особистої участі наведений у додатку Д.

Структура і обсяг дисертації

Дисертаційна робота викладена на 248 сторінках машинописного тексту, складається зі вступу, огляду літератури, семи розділів, аналізу й узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних джерел і додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 151 сторінку друкованого тексту. Дисертаційна робота ілюстрована 34 таблицями, 66 рисунками. Список використаних джерел містить 262 найменування, з них 122 кирилицею та 140 латиницею.

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО ОСОБЛИВОСТІ ЗАПАЛЕННЯ ПЛАЦЕНТИ В АСПЕКТІ ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНОЇ АНЕМІЇ ВАГІТНИХ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1 Морфологічні особливості запалення плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних

Проблемі запалення посліду та залізодефіцитної анемії вагітних присвячено чимало наукових праць, що зумовлено високою частотою цих станів. Проте важливо дослідити їх взаємовплив, з метою розширення та доповнення інформаційної бази патоморфології плацентарної недостатності, яка є спільним морфологічним проявом для цих станів. На даному етапі спробуємо спрогнозувати та зрозуміти, які зміни можуть виникати в плаценті при її запаленні на тлі ЗДАВ.

Насамперед зупинимося на проблемі запалення плаценти та морфології посліду при ЗДАВ.

Хоча при запаленні посліду варто очікувати на наявність усіх закономірностей, які трапляються також в інших локалізаціях, все ж зауважимо низку відмінностей, які можуть бути пов'язані з різними чинниками. По-перше, в останні роки встановлено, що в плаценті, пуповині та плодових оболонках немає лімфатичних судин та нервових закінчень і, отже, виключаються симпатичні та парасимпатичні впливи [24, 112]. По-друге, кровообіг у плодовій частині плаценти характеризується тією особливістю, що в артеріях тече венозна, а у венах – артеріальна кров [132]. По-третє, вагітність – це унікальний імунологічний стан, при якому материнські адаптивні та природжені компоненти імунної системи сприяють заплідненню та перебігу вагітності, а також забезпечують захисні механізми проти мікробних патогенів плаценти. Зокрема, плід – алотрансплантат, а активні механізми імунної толерантності матері мають фундаментальне

значення для толерантного стану батьківських антигенів і запобігання відторгнення плоду. Отож, у плаценті, яка містить генетичний матеріал як плода, так і матері, варто сподіватися на особливі імунологічні взаємовідносини [132, 134, 151, 186, 220], які можна розглядати з двох позицій: взаємин плода і матері (алотрансплантата плодового яйця в організмі жінки) та імунологічного захисту плода від інфекцій в системі мати – плацента – плід [132].

У наш час в літературі достатньо фактів, які характеризують механізм, котрий забезпечує виношування плода гемохоріального типу плаценти, при якому плід безпосередньо контактує з кровотоком матері [132, 210].

Механізми, відповідальні за толерантність під час вагітності, включають наступне: пригнічуюча роль регуляторних Т-клітин; експресія неklasичних молекул основної гістосумісності на трофобластних клітинах, які не викликають імунну відповідь матері; зміни катаболізму триптофану; Т-клітинний апоптоз; костимулюючі молекули, такий як запрограмований ліганд смерті [228].

Імунологічна реактивність вагітних також тісно пов'язана з гормональними змінами в системі мати – плацента – плід. Відомо, що чимало білків, які синтезуються в плаценті, здійснюють пригнічувальний вплив на імунологічну реактивність матері, зокрема, білок-супресор, синтезований трофобластом, хоріонічний гонадотропін, плацентарний лактоген, а також прогестерон. Окрім цього, у сучасній літературі описано механізм інгібуючої дії лімфоцитів з пуповини мітотичного поділу лімфоцитів матері [112, 210]. Не менш важливою особливістю наділені імунні клітини плода та фагоцити, які мають інші властивості, ніж у дорослої людини, що стосується їх вираженої незрілості, а це відповідно може вплинути на процеси вільнорадикального окиснення.

Усі вище перераховані особливості плаценти певною мірою можуть вплинути на перебіг запалення посліду, що варто враховувати при діагностиці й аналізі цих станів.

Запалення не варто розцінювати винятково в ракурсі інфекційного процесу в системі мати – плацента – плід. У літературних джерелах трапляються дані про те, що запалення плаценти має поліетіологічний характер, зокрема, окрім інфекційного, може бути ішемічного або ж імунологічного походження (відторгнення від ембріона у матері). Серед інших причин появи запальних інфільтрацій у тканинах плаценти може бути самостійне відторгнення її при термінових пологах, які містять комплекс циркуляторно-дистрофічних змін у структурах плаценти та власне лейкоцитарну інфільтрацію [132]. Запальна реакція в межах децидуальної і хоріальної пластинок може бути фізіологічним процесом, зумовленим ушкодженням оболонок у процесі нормальних пологів. У дослідженнях різних авторів показано, що нормальні пологи при доношеній вагітності в 18 % випадків можуть супроводжуватися гістологічними ознаками внутрішньоматкового запалення (поліморфно-ядерною інфільтрацією хоріону і амніона) [175, 255]. Щодо першого, то інфекційна етіологія плацентиту є різноманітною, ураження посліду може викликатися усіма класами мікроорганізмів: вірусами, мікоплазмами, хламідіями, рикетсіями, бактеріями, найпростішими, грибами [14, 80, 83, 86, 113, 229, 236]. Проте в останній час провідну роль надають полімікробній, так званій мікст-інфекційній, етіології [86, 175], при цьому характер змін, які виникають у посліді, залежить як від властивостей і способу розмноження збудника, так і від стану макроорганізму, тривалості перебігу інфекційного процесу та шляху інфікування [54, 112, 213].

Варто пам'ятати, що не завжди запалення плаценти інфекційної етіології, передбачає наявність збудника в осередку запалення, а також запалення плацентарних тканин, як уже вказувалось, може бути неінфекційного генезу та мати імунне походження [178]. Коротко зупинимось на цих аспектах.

Загальновідомо, що запальний процес може локалізуватись у хоріальній пластинці (хоріоамніоніт), міжворсинчастому просторі

(інтервілузит), ворсинах (вілузит), базальній децидуальній пластинці (базальний децидуїт) та пуповині (фунікулїт) [4, 24, 135], а якщо в запалення залучаються усі три шари (амніон, гладкий хоріон і децидуальний шар), то цей процес називається мембранітом [24, 112]. Найчастіше діагностується хоріоамніоніт (гострий хоріоамніоніт трапляється значно частіше, ніж хронічний, і становить у доношених плацентах 20 – 24 % [178, 204, 248, 253] і в недоношених 40 – 70 % [221] та базальний децидуїт.

Причиною гострого гістологічного хоріоамніоніту зазвичай вважають внутрішньоамніотичну інфекцію («синдром амніотичної інфекції»). Проте гострий хоріоамніоніт, як повідомляється [178], може виникати при стерильному внутрішньоутробному запаленні, і з'являється він за відсутності видимих мікроорганізмів (мікробно-асоційоване внутрішньоамніотичне запалення) та викликається «сигналами небезпеки», які вивільняються в умовах клітинного стресу, травми або смерті. Тому в даному разі, гострий хоріоамніоніт скоріше – наслідок внутрішньоутробного запалення, а не внутрішньоамніотичної інфекції. Спостереження багатьох дослідників підтверджують, що гострий гістологічний ХА може бути наявний без видимих внутрішньоамніотичних інфекцій [221, 227, 231, 233, 234, 235]. Зокрема, привертають увагу дослідження Romero R. et al. [236], які показують, що гострий хоріоамніоніт у значної кількості вагітних виникає без внутрішньоматкового запалення. Так, використовуючи як культивовані, так і молекулярно-біологічні методи, тільки у 4 % пацієнтів із гострим гістологічним хоріоамніонітом були виявлені мікроорганізми в плаценті. В інших своїх дослідженнях [229] у 18,4 % (7/38) мало місце запалення амніону з відсутністю мікроорганізмів, а Kyung Joon Oh et al [212] зазначають, що при клінічному хоріоамніоніті під час амніоцентезу в 66 % не було культур амніотичної рідини з використанням стандартних мікробіологічних методів.

Потенційним поясненням вищезгаданих переконань є таке:

- 1) запалення хоріоамніотичних мембран – це неспецифічний механізм захисту господаря від «сигналів небезпеки» немікробного походження; 2)

внутрішньоамніотична інфекція, яка, ймовірно, рідкісна; 3) нежиттєздатні мікроорганізми, які можуть вивільняти хемотаксичні фактори, які викликають запалення. Ці організми, можливо, вторгнулися в амніотичну рідину та були очищені імунною системою [178].

ХА розрізняють гістологічний, клінічний або поєднаний. Гістологічний ХА за перебігом класифікують як легкий, середньої тяжкості та тяжкий [160].

Гістопатологічні особливості гострого хоріоамніоніту включають амніотропну інфільтрацію материнськими та плодовими нейтрофілами (які зазвичай не трапляються) між хоріоном і амніоном та в пуповині [24, 164, 180] зумовленою градієнтами потужних нейтрофільних хемокинів, як от: IL-8 та CXCL6 (GCP-2) [159, 180]. Підгострий хоріоамніоніт характеризується змішаним запальним інфільтратом з мононуклеарних клітин і зруйнованих нейтрофілів, а хронічний – тільки мононуклеарних клітин у хоріональній пластинці [179]. Хронічний хоріоамніоніт – частіше поширене ураження у плацентах передчасних пологів [191, 192, 194, 222, 228], хоча його також можна спостерігати у невеликій кількості (9 %) термінових пологів. Це пов'язано із високою концентрацією Т-клітинного хемокину CXCL10 амніотичної рідини та експресії мРНК CXCL9, CXCL10 та CXCL11 у хоріоамніотичних мембранах [194, 193, 202, 221].

Зацікавленість викликала розроблена С.І. Kim, R. Romero та ін. система оцінки тяжкості хронічного хоріоамніоніту [179], яку було використано в ході наших досліджень. Так, клас 0 вказує на відсутність запалення; 1-й клас – наявність 2 осередків запалення або осередкового запалення; 2-й клас вказує на наявність дифузного запалення. Стадія запалення оцінюється як «І», якщо амніотропна лімфоцитарна інфільтрація була обмежена шарами хоріонального трофобласта, який зберігає хоріоамніотичну сполучну тканину, а як стадія «ІІ» – якщо була помічена лімфоцитарна інфільтрація в хоріоамніотичну сполучну тканину.

Базальний децидуїт (БД) за перебігом буває гострий і хронічний. При гострому БД спостерігаються виражені лімфоїдноклітинні інфільтрації з

великою кількістю поліморфно-ядерних лейкоцитів (ПЯЛ) базальної пластинки плаценти [24, 112]. Хронічний децидуїт діагностують при наявності суттєвої та екстенсивної інфільтрації лімфоцитів, а також плазматичних клітин у базальній пластинці плаценти. Крім хронічної мікробної інфекції, причетні до етіології хронічного децидуїту ще й імунні механізми [77, 120, 179], запускання яких можуть провокувати передчасне відшарування плаценти [92, 145, 208, 249].

Maroun L.L., Mathiesen L. et al. [179] нещодавно запропонували оцінку системи хронічного базального децидуїту. Критерієм для діагностики хронічного децидуїту є наявність ≥ 50 лімфоцитів у полі зору (клас 1). Хронічний децидуїт 2 і 3 класів характеризується наявністю лімфоцитів у множинних і дифузних вогнищах відповідно. Ця класифікація добре збігається з характеристикою Khong T.Y. et al. На відміну від хоріоамніоніту, при базальному децидуїті має місце лімфоцитарна інфільтрація клітин тільки материнського походження.

Анемія – глобальна проблема громадського здоров'я, оскільки трапляється дуже часто [103, 105, 177]. Найбільш поширена під час вагітності – залізодефіцитна анемія (ЗДА), на яку припадає близько 90 % усіх анемій [81] і яка характеризується порушенням синтезу гемоглобіну в результаті дефіциту заліза [45, 127, 238]. Варто розрізняти поняття залізодефіцитної анемії вагітних від залізодефіцитної анемії у вагітних, адже остання не конкретизує появу її саме під час вагітності [1].

Розвиток дефіциту заліза вагітних має три стадії: прелатентна, латентна та власне залізодефіцитна анемія вагітних (ЗДАВ), при якій спостерігається поглиблення гіпохромії та пойкилоцитоз еритроцитів, подальше зниження середнього вмісту гемоглобіну в еритроциті та зменшення середнього об'єму еритроцитів, зниження рівня сироваткового заліза та підвищення загальної залізо зв'язувальної здатності сироватки [107, 205]. Зміни в крові згодом супроводжуються генералізованим дефектом клітинної проліферації, порушенням обміну білків, вітамінів тощо, які клінічно проявляють себе

характерними змінами насамперед епітеліальних тканин та імунної системи [27].

Ще в 70 – 80-ті роки висловлювалося припущення, що дефіцит заліза потрібно оцінювати за зниженням рівня феритину, хоча насправді це далеко не так. Молекула феритину складається з двох компонентів: білкової оболонки – апоферитину, який містить дві субодиниці, і кристалічного ядра у вигляді колоїдного гідроксиду заліза. Повністю насичена залізом молекула феритину має заліза до 27 % своєї молекулярної маси. Для захоплення заліза необхідний молекулярний кисень, причому феритин виконує фероксидазну функцію, тобто здатний переносити електрон (у не відомий поки що спосіб) з відновленого заліза Fe^{2+} на кисень, утворюючи окиснене залізо Fe^{3+} . Через те, що побічним продуктом цієї реакції є утворені в результаті одноелектронного відновлення кисню цитотоксичні вільні радикали, феритин вважається білком із вираженою цитотоксичною і цитотропною функціями. Рівень феритину зростає при інфекційних, запальних, деструктивних процесах, а також при голодуванні, що не дає змоги оцінювати його як однозначний індикатор запасів заліза в організмі [103].

У ракурсі запалення у сучасній літературі є дослідження, спрямовані на вивчення впливу побічного активного запального процесу різної локалізації та етіології, на перебіг залізодефіцитної анемії під час вагітності, які в жодному разі не стосуються морфології посліду при поєднанні цих станів. Для кращого розуміння ЗДАВ увагу привертає позиція Л.І. Дворецького та І.Г. Сулейманової, які, спираючись на загальновідомі факти, що специфічним діагностичним критерієм залізодефіцитної анемії є рівень залізовмісного білка феритину, науково підтверджують, що наявність побічного активного запального процесу, зокрема інфекційної етіології, у вагітних із залізодефіцитною анемією може маскувати гіпоферитинемію (у 89 % спостережень рівень сироваткового феритину підвищений чи перебуває в межах норми) і не є специфічним показником явних запасів заліза у даній категорії жінок [105].

За останнє десятиліття вченими проведено низку досліджень, спрямованих на вивчення патоморфологічних змін у плаценті при залізодефіцитній анемії вагітних [6, 7, 8, 21, 72, 73]. Дослідження вчених гістологічних особливостей основних структурних елементів плаценти при гіпохромній анемії показали, що ворсинчасте дерево зазнає виражені патоморфологічні зміни. Виявляються ділянки зі значним дефіцитом повноцінних спеціалізованих термінальних ворсин на тлі домінування проміжних ворсин і патологічно незрілих, склерозованих і фіброзно-змінених ворсин, тобто спостерігається картина патологічної незрілості ворсинчастого дерева. Також зазначимо, що зі збільшенням тяжкості перебігу анемії (зниження рівня гемоглобіну нижче 90 г/л) патоморфологічна картина змін плаценти посилюється.

Розвиток ЗДА на ранніх термінах вагітності призводить до недостатності першої хвилі інвазії трофобласта, порушення розвитку ворсин хоріона і гіпоплазії плаценти. У II триместрі вагітності при ЗДА на перший план виступають порушення гіпоксичного характеру [12]. Врешті-решт в умовах порушення клітинного метаболізму, мікроциркуляції і хронічної гіпоксії при анемії відбувається порушення трофічної, метаболічної, гормонопродукуючої і газообмінної функцій плаценти [7, 12, 47].

Потенційні компенсаційні механізми, а саме: посилення поглинання заліза у матері та збільшення перенесення плацентарного заліза, можуть сприяти зменшенню ризику дефіциту заліза в плода. За останнє в плаценті відповідає рецептор трансферину (TfR), експресований в основному на апікальній стороні мембрани синцитіотрофобласта, де він відповідальний за зв'язування трансферину матері. Звідси можна висунути припущення, що будь-який екзо- чи ендогенний вплив на структури ворсин хоріона може призвести до їх дисфункції з порушенням експресії плацентарного TfR, наслідком якого може виникати посилений і без того дефіцит заліза [260].

Зупинимось на взаємозв'язку запалення та залізодефіцитної анемії. У патогенезі плацентарної недостатності на тлі ЗДАВ центральне місце

посідають зміни в метаболізмі плацентарної тканини і порушення гіпоксичного характеру. Тому основною етіологією, яка зумовлює тяжкість цих станів, варто розглядати або індуковане гіпоксією внаслідок залізодефіцитної анемії запалення, або запалення, яке призводить до гіпоксії. Через це молекулярні механізми, які регулюють індуковані гіпоксією адаптивні реакції в клітинах – важливі сфери дослідження. Доступність кисню визначається молекулярними перемикачами, які регулюють синтез і секрецію факторів росту та запальних медіаторів. Добре відомо, що гіпоксія ініціює інтенсивну запальну відповідь яка погіршує гіпоксичне пошкодження [136] та може бути ініціатором експресії цитокінів у периферичних мононуклеарних клітинах, тканинних макрофагах і макрофагах фетоплацентарного комплексу [92, 260], молекул адгезії та інших запальних медіаторів. Запалення в ішемізованих тканинах посилює ушкодження тканини, що спричиняє погіршення перебігу процесів зумовлених цими станами [181, 224]. Оскільки гіпоксія викликає запалення, інше також імовірно (травми, інфекції), де запалення погіршує перфузію тканин через тромбоз. Підвищена проникність судин призводить до набряку, збільшення тиску внутрішньом'язової рідини і стисненню судин [11, 84, 236]. Отже, клітинні відповіді на гіпоксію центральні в патології багатьох захворювань.

Як зазначає у своєму огляді S. Ramakrishnan та співавт [224] існує сильний перехресний зв'язок між гіпоксією і запаленням. Запалення створює гіпоксичні умови через підвищену метаболічну активність. Гіпоксія в місці запалення може призвести до руйнування судин, коагуляції і блокування кровотоку, а тканинний некроз виникатиме після тривалої недостатності транспорту кисню. Різко змінюється профіль експресії генів, змінюючи їх репертуар, через модуляцію факторів транскрипції. І на завершення – гіпоксія, викликана запальною відповіддю і запаленням, може породити гіпоксичний стрес.

Центральний медіатор гіпоксичної відповіді є гіпоксія-індукований фактор (HIF) [166, 149, 167]. HIF-1 α має прямий вплив на шлях NF κ B і тим

самим пов'язує вроджений імунітет, запалення, ішемію [149]. На додаток до метаболічної і ангіогенної регуляції, HIF-1 [154, 139] також відповідає за експресію запальних цитокінів, які своєю чергою індукують продукцію Th-2 цитокінів [166, 149]. HIF-1 α також подовжує тривалість життя нейтрофілів у гіпоксичних умовах через пригнічення апоптозу [149].

1.2 Особливості патогенезу запалення плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних

При запаленні та залізодефіцитній анемії активуються вільнорадикальні процеси, які своєю чергою можуть спричинити їх взаємне обтяження та, ймовірно, розвиток ще тяжчої патології плаценти. Цей аспект проблеми остаточно не з'ясований та є перспективним для подальшого вивчення.

Загальновідомо, що більшість патологічних процесів перебігає на тлі утворення активних форм кисню, а також азоту та хлору – так званих «первинних» вільних радикалів (ВР) та інтенсифікації вільнорадикального окиснення біосубстратів, що належать до різних класів органічних сполук (білки, ліпіди, нуклеїнові кислоти). Цей процес зумовлений дисбалансом між прооксидантними й антиоксидантними системами, які в нормі блокують утворення високореактивних ВР [10], і є основою розвитку окиснювального стресу (окиснення компонентів клітини) [85, 170].

Основне джерело вільних радикалів – це кисень, до активних форм якого належать діоксид або супероксидний аніон-радикал, найбільш стабільний – перекис водню та найсильніший окисник – гідроксильний радикал [229, 250, 259]. Окрім продуктів відновлення кисню до його активних форм належать активовані кисневі метаболіти: молекули в синглетному стані та оксид азоту, пероксинітрит, гіпогалогеніти [239]. Більшість реактивних форм утворюються при витоку електронів із мітохондріального дихального ланцюга так званим ланцюгом перенесення

електронів. Інші джерела включають короткий електронний ланцюг в ендоплазматичному ретикулумі (ER), цитохромі P450 і ферментах нікотинамідаденіндинуклеотидфосфату (NADPH) – оксидази [126, 183].

Tsang et al [256] нещодавно показав, що плацента людини складається з дванадцятьох основних кластерів клітин. Серед них найбільш поширені стромальні клітини, ендотеліальні клітини, ворсинчастий цитрофобласт і екстравільозний трофобласт. Цікаво відмітити, що також були ідентифіковані кластери імунних клітин (макрофаги, дендритні клітини, Т-клітини, клітини Хофбауера), які можуть бути відповідальні за генерування окислювального стресу [124, 129].

Існує низка методів на виявлення радикалів. Основні методи вивчення реакцій за участю радикалів такі: електронний парамагнітний резонанс, хемілюмінесценція та інгібіторний аналіз. Безпосередній хімічний аналіз радикалів проблематичний, оскільки на відміну від звичайних молекул їх не можна ні виділити, ні очистити внаслідок величезної реактивної здатності [19, 50].

Вільні радикали – надзвичайно активні частинки з неспареним електроном і тому існують у вільному стані дуже короткий час. Біологічні проби, призначені для кількісного аналізу ВР, неможливо транспортувати та зберігати, адже ВР повністю зникають за час взяття самої проби. Тому для лабораторного аналізу не застосовують стандартні методи лабораторної діагностики, основані на визначенні стабільної концентрації речовин або постійного складу (біохімічний і клінічний аналіз крові). Такі структурні (морфологічні) методи можуть бути використані тільки для визначення стабільних продуктів окислення біологічного матеріалу вільними радикалами – маркерів оксидантного стресу, проте ця інформація непрямі і вельми неповна, позаяк відображає лише кінцевий результат складного процесу [19]. Прямий метод аналізу радикалів – метод електронного парамагнітного резонансу. Однак у біологічних системах він часто виявляється недостатньо чутливим через вкрай низьку стаціонарну

концентрацію радикалів у клітинах і тканинах [19, 50]. Найпридатнішими для дослідження ВР є хемілюмінесцентні методи, оскільки явище хемілюмінесценції відображає інтенсивність процесів, які відбуваються, а не концентрацію речовин. До основних хемілюмінесцентних методів дослідження ВР належить метод визначення антиоксидантів, метод клітинної і тканинної хемілюмінесценції [19]. Його часто застосовують при вивченні механізму фотобіологічних процесів з огляду на те, що на ранніх стадіях більшість із первинних продуктів – це вільні радикали, а саме реакції ВР зазвичай супроводжуються сильною або слабкою хемілюмінесценцією. Метод хемілюмінесценції має ще чимало інших переваг: по-перше, він зазвичай не пов'язаний зі зміною процесів у розчинах, клітинах або навіть цілих тканинах, де реєструється світіння, по-друге – дуже чутливий за виявлення саме високореактивних радикалів [19, 50].

Широко використовуються хемілюмінесцентні реакції за участю пероксиду водню з пероксидазою з коренів хрому та залізом (II), але оскільки пероксид водню нестабільний і розкладається на повітрі, найбільшого поширення набули методики, ґрунтовані на хемілюмінесцентній реакції люмінолу з АФК (гідроксильним радикалом і супероксидом) [2, 19, 98, 99]. Приєднання хемілюмінесцентної мітки відбувається або до антигену, або ж до антитіла цього антигену [70].

У вітчизняних джерелах знаходимо відомості про визначення ВР у структурах хоріальних ворсинок плаценти. Зокрема, А. В. Гошовська, та співавт. [25] вивчали кількісні показники інтенсивності хемілюмінесцентного світіння нітропероксидів на заморожених зрізах плаценти, використовуючи принцип ініціації світіння (виділення світлової енергії) нітропероксидів люмінолом, у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок при ЗДАВ у різні терміни гестації. У своїй публікації вчені стверджують, що для оцінки окиснювального стресу у структурах плацентарної тканини найперше увагу потрібно приділяти нітропероксидам, які, на відміну від активних форм кисню, завдяки більшому часу існування, здатні долати порівняно більші

дифузійні дистанції і тому спроможні викликати реальну патологію в глибині тканини, а не тільки на поверхнях. Отже, проведені науковцями дослідження люмінесцентного світіння цитоплазми трофобласта хоріальних ворсинок допомогли встановити, що з терміном гестації зростає кількість нітропероксидів у структурах плаценти, причому, починаючи з 13 – 16 тижня гестації і до її завершення, а залізодефіцитна анемія вагітних спричиняє значніше утворення нітропероксидів у цитоплазмі трофобласта, ніж за відсутності анемії.

І.С. Давиденком та співавт. [33] хемілюмінесцентна методика з люмінолом була використана при визначенні нітропероксидів у цитоплазмі синцитіотрофобласта хоріальних ворсин плаценти при гнійному хоріоамніоніті, де середні кількісні показники були статистично вищими за показники фізіологічної вагітності.

Незважаючи на наявність наукових досягнень у сфері вивчення вільнорадикальних процесів та розробці сучасних методів дослідження, даних, присвячених вільнорадикальним процесам при поєднанні запалення та ЗДАВ, не знайдено. Недостатньо вивчені також вільні радикали у структурах хоріальної та базальної пластинок плаценти при хоріоамніоніті та базальному децидуїті.

Зараз уже відомо, що АФК – важливіший фізіологічний агент у самій клітині. Вони здатні давати різні регуляторні ефекти та опосередковувати загальні адаптаційні реакції клітини, відомі нині як «окснювальний стрес». АФК беруть участь у стимуляції специфічного, неспецифічного (фагоцитоз, антиінфекційний ефект, регуляція запалення) та антипухлинного імунітету [203, 218], в регенерації [124], діють як внутрішньоклітинні регулятори клітинного поділу, апоптозу в клітині [124, 250], регулюють судинний тонус [106, 173].

Не викликає сумніву, що вільнорадикальні реакції приймають участь у ініціації та становленні патофізіологічних процесів, від яких залежить розвиток багатьох захворювань, а в більшості випадків – провідна роль у

молекулярній патології організму [28]. Не виняток і патологічні процеси в плаценті, зумовлені впливом ВР [43, 223, 258, 259].

Існують дані, що реактивні окиснювачі регулюють транскрипцію генів, процес проліферації трофобластів, інвазію та ангіогенез, проте іноді шкодять нормальному розвитку плаценти [214, 223, 259]. Дисбаланс між виникненням реактивних форм кисню та здатністю антиоксидантів інгібувати окисне ушкодження може спричинити ураження макромолекул, що призводить до порушення функції плацентарних клітин, обміну поживними речовинами між матір'ю та плодом [257], а також факторів росту та гормонів, які забезпечуються материнським кровопостачанням [173, 254].

ВР беруть активну роль при запальних захворюваннях посліду, втручаючись на найрізноманітніших рівнях ініціації, перебігу та регуляції. Під час запалення пряма активація запальних клітин, особливо гранулоцитів, виділяє велику кількість кисневих радикалів і протеаз, які сприяють знищенню бактерій, але також посилюють окиснювальний стрес [215].

Джерелами вільних радикалів у зоні запалення є: дихальний вибух фагоцитів за їх стимуляції, каскад арахідонової кислоти, ферментні процеси в ендоплазматичному ретикулумі та пероксисомах, мітохондріях, цитоплазмі, а також самоокиснення катехоламінів, лейкофлавінів, гідрохінінів. В умовах гострого запалення вільні радикали викликають руйнацію міжклітинного матриксу, чинять шкідливу дію на фібробласти, водночас вони можуть стимулювати процеси проліферації [63].

Розвиток окиснювального стресу при запаленні індукує надходження фагоцитів у вогнище запалення, а також модулює їх рецепторні властивості та викликає так звану активацію ендотелій-регульовану зміну фенотипу ендотеліальних клітин, що характеризується підвищенням експресії на їх поверхні молекул адгезії та інших білків, які беруть участь у міжклітинних взаємодіях. Узагальнюючи основні події, які відбуваються на початкових стадіях запалення, розвиток окисного стресу викликає вазоконстрикцію, посилює агрегацію тромбоцитів і адгезію нейтрофілів до ендотелію [106, 88];

продукти перекисного окиснення ліпідів стимулюють міграцію в тканини гранулоцитів і моноцитів. Водночас, самі АФК індукують синтез деяких цитокінів, зокрема IL-2, IL-8 [18, 88].

Отже, АФК активно беруть участь у розвитку запальної реакції, починаючи з фази альтерації та закінчуючи процесами репарації. При цьому регуляторна, мікробіцидна та деструктивна дія АФК не обмежена рамками імунної системи або мікроциркулюючого русла. Усі клітини організму мають механізми синтезу АФК, а тому – цитотоксичну та регуляторну дії. При цьому вільнорадикальна концепція дає змогу поєднати клітинну, судинну і нейроімунну теорії запального процесу [88].

У ракурсі залізодефіцитної анемії виявлені цікаві факти. Дослідники припускають, що при анемії підсилюється синтезу NO-синтаз, які депонуються у вигляді динітрозильних комплексів заліза та S-нітрозотіолів, механізм яких ймовірно зумовлений збільшенням рівня вільного заліза. Іншими словами, вільнорадикальні процеси сприяють вивільненню вільного заліза з феритину та відповідному накопиченню динітрозильних комплексів заліза, а це все може посилювати і без того його наявний дефіцит [41].

Відомо, що плацента за умов гіпоксії стимулює вивільнення великої кількості мікрочасток синцитіотрофобласта. Плацентарна гіпоксія у синцитіотрофобласті може стимулювати виробництво, пов'язаної з ушкодженням, молекулярної структури, яка активує імуноцити, включаючи нейтрофіли і дендритні клітини. Активовані імуноцити можуть продукувати прозапальні цитокіни, включаючи фактор некрозу пухлин α (TNF α), і сприяти окислювальному стресу за допомогою активації нейтрофільної нікотинамідаденіндинуклеотидфосфата (NADPH)-оксидази [124].

Зупинимось на сучасному морфологічному підході вивчення вищезазначених змін, викликаних ВР при запаленні плаценти та ЗДАВ.

АФК хімічно дуже агресивні, вони ушкоджують білки та ДНК, а також викликають перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ), що призводить до важкого ушкодження мембран [79, 74, 129, 250] Однак, крім головного субстрату

окиснення молекул біомембран та ядерного хроматину, активні форми кисню викликають й окиснювальну модифікацію білків (ОМБ), за рахунок порушення кліренсу між процесами регуляції синтезу й оксидації протеїнів і зменшенням активності протеаз, які повинні були селективно розщеплювати окиснювальні форми білків [79, 74].

Значна кількість науковців вважає, що однією з причин підвищених процесів ОМБ може бути неконтрольована інтенсифікація перекисного окиснення ліпідів. Відомо, що продукти ПОЛ, зокрема малоновий діальдегід, реагуючи з лізиновими залишками білків, спричиняють їх деградацію з утворенням різноманітних цитотоксичних сполук [96, 124]. Інші вважають, що в стані окисного стресу атакуванню вільних радикалів, насамперед підлягають не ліпіди, а білки плазматичних мембран. Підтвердженням первинності перекисного окиснення білків є наявність виражених змін у ділянці анулярних ліпідів, що свідчать про провідну роль окиснювальної модифікації білків у деструкції клітинної мембрани [63].

У такий спосіб, серед основних індукторів ОМБ: активні форми кисню, збільшення вільного заліза, продукти перекисного окиснення ліпідів за зниження антиоксидантного захисту. Отже, вважатимемо, що нагромадження окисненого білка може бути раннім критерієм ушкодження тканин активними формами кисню (при деяких патологічних станах досягає 50 – 70 % усього клітинного білка) [74] тобто бути найпершим раннім маркером окиснювального стресу [19, 78].

За дії АФК відбувається порушення нативної конформації білків з утворенням великих білкових агрегатів або фрагментація білкової молекули. Гідроксильний радикал найчастіше викликає агрегацію білків, а в комбінації з супероксид-аніоном – фрагментацію з утворенням низькомолекулярних фрагментів. Радикали ліпідів можуть також викликати фрагментацію білкових молекул [90]. При цьому патогенетичність цих продуктів ОМБ зумовлена їх геномо- та цитотоксичністю, що викликає загибель клітин за типом апоптозу або некрозу [74].

ОМБ в останній час перебуває у центрі уваги морфологів та стала новим напрямком досліджень при різних патологічних станах [78, 74].

Серед сучасних методів мікроскопічної оцінки процесів ОМБ в окремих клітинах є поєднання гістохімічної методики фарбування зрізів бромфеноловим синім при низькому рН на «кислі» та «основні» білки за методом Mikel Calvo в поєднанні з комп'ютерною мікроспектроскопією результатів забарвлення на кольорових цифрових копіях зображення [29, 35]. Досліджуючи різні структури плаценти О. П. Шендерюком та І. С. Давиденком [117] за умов запального процесу, зауважено характерні зміни окиснювальної модифікації білків трофобласта плаценти, які корелювали з концентрацією нітропероксидів цієї ж локалізації, що принципово підтвердило спроможність розробленої методики. При [115] застосуванні даної методики, при вивченні властивостей білків цитоплазми трофобласта при гострому хоріоамніоніті, згідно з коефіцієнтом R/V, процеси ОМБ були вищі за показники плацент з хронічним запаленням та плацент від жінок фізіологічної вагітності. Така ж тенденція спостерігалась у плацент з гострим та хронічним базальним децидуїтом. Кількісні показники коефіцієнта R/V цитоплазми ендотелію хоріальних ворсинок плаценти при запаленні посліду показали, що тільки при гострому та хронічному хоріоамніоніті зростає рівень ОМБ, порівнюючи з показниками фізіологічної вагітності, і при гострому перебігу більше, ніж при хронічному.

В аспекті ЗДАВ вивчалися процеси ОМБ у трофобласті хоріальних ворсинок плаценти при передчасному дозріванні хоріального дерева в поєднанні із залізодефіцитною анемією вагітних у два різні відрізки гестації – 29 – 32 та 33 – 36 тижнів гестації [21]; у хоріальному дереві та базальній пластинці плаценти при кальцинозі (відкладання кальцію типу II та типу IV), що корелюється більшими процесами ОМБ при ЗДАВ, ніж без неї. Проте не знайдено жодних даних, щодо застосування даної методики при вивченні процесів ОМБ у структурах хоріальної та базальної пластинки плаценти при їх запаленні та на тлі ЗДАВ [219].

Серед великої різноманітності досліджень, спрямованих на вивчення процесів ОМБ у структурах плаценти при різних її патологічних станах, даних про морфологію запалення посліду у поєднанні зі ЗДАВ не знайдено.

Дослідження науковцями окиснювального стресу на клітинному рівні показало, що вплив одного і того ж окиснювача (наприклад H_2O_2) на проліферуючі клітини призводить до широкого спектра клітинних відповідей, таких як проліферація, диференціювання, міграція та смерть клітин. Аутофагія та апоптоз – це ще два важливі взаємозалежні процеси, які також часто підлягають впливу окиснювального стресу [189, 197, 243, 244, 250, 252, 258]. Правильний взаємозв'язок між ними відіграє важливу роль у плацентарному гомеостазі [139, 139, 141, 142].

Розвиток окиснювального стресу при запаленні одночасно є сигналом для клітинної проліферації і апоптозу певних клітинних клонів [88].

Різні експерименти *in vivo* вказують на окислювальний стрес, як індуктор апоптозу в плаценті [111, 129, 131, 143]. Beausejour et al. [131] була створена щуряча модель з прееклампсією, в результаті якої впродовж останнього тижня гестації вводили ін'єкційно розчин NaCl (0,9 % або 1,8 %). У цьому стані плаценти цих тварин демонструють збільшення експресії 8-iso-PGF2- α , TXB2, TNF- α і eNOS та зниження загальних рівнів GSH. Ці дані справді свідчать про підвищений окислювальний стрес у щурів з прееклампсією. Крім того, ця модель також продемонструвала збільшення відношення апоптотичного індексу (Bax / Bcl - 2) до числа апоптотичних клітин.

Речовини, які беруть участь у регуляції апоптозу, як правило, є білками, а їх синтез контролюється відповідними генами. Яскравими і найінформативнішими білками, які відображають перебіг синтетичних процесів в клітинах і тканинах та займають центральне місце у вивченні регуляції процесу апоптозу, є Bax (проапоптотичний протеїн) та Bcl-2 (протиапоптотичний протеїн). Вони здатні об'єднуватися один з одним, формуючи гомо- і гетеродимери. Bax-Bax гомодимери можуть індукувати

апоптоз, гетеродимери Bcl-2-Bax – перешкоджати процесам апоптозу як в нормальних, так і в патологічних тканинах [110].

Уже розроблено понад 60 різних методів виявлення і вивчення апоптичних клітин *in vitro* [110, 101, 199, 143, 165].

За допомогою імуногістохімії, імуофлюоресцентного аналізу та вестерн-блот визначають наявність білків, які формують каскад біохімічних процесів, що призводять до апоптозу [110, 155, 188]. Зазвичай використовують полі- і моноклональні антитіла до протеїнів p53 – PAB-1801, PAB-240 та ін. Крім антитіл, до p53 застосовують імуноглобуліни до інших ключових точок генетичної програми апоптозу – Bcl-2, Bax, MPM-2, RB, Fas (моноклональні антитіла ICO-160, анти-Fas, анти-АРО-1) і т. д. [101].

Зокрема, часто до цієї групи відносять метод TUNEL. Так, за його допомогою, дослідники (І. С. Давиденко, В. П. Пішак та ін.) [37] проводили ідентифікацію стромальних клітин термінальних зрілих ворсин плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних із характерними для апоптозу розривами ДНК із застосуванням тест-системи TACS XLTM з дозабарвленням клітинних ядер (ядерної ДНК) метиленовим зеленим. Для імуногістохімічної ідентифікації проапоптотичних (протеїнів Bax та Bcl-XS) та протиапоптотичних протеїнів (протеїнів Bcl-2, Mcl-1, Bcl-XL) молекулярних факторів використовували первинні антитіла до цих антигенів та стрептовідинбіотинову систему візуалізації LSAB2 (пероксидазна мітка + діамінобензидин), а дофарбування ядер виконували гематоксиліном Майєра.

В інших своїх дослідженнях науковцями імуногістохімічно було вивчено експресію протеїнів Bax та Bcl-2 у клітинах Гофбауєра плацентарних ворсин при ЗДАВ [37], де встановили, що при залізодефіцитній анемії вагітних у клітинах Гофбауєра у середньому зазначається менша інтенсивність трансформації мономера Bax в гомодимер Bax-Bax, ніж за відсутності анемії. Це призводить до виживання більшої кількості клітин Гофбауєра у ворсинах плаценти і є одним із факторів порушення дозрівання хорального дерева. В. М. Костюк [72, 73], провівши вивчення морфологічних

аспектів апоптозу в екстравільозному цитотрофобласті, дійшов висновку, що ЗДАВ вірогідно впливає на посилення процесів апоптозу у клітинах усіх структур периферійного цитотрофобласту, особливо при III стадії анемії, що відображено в результатах точної денситометричної оцінки ступеня специфічного забарвлення.

Визначення процесів апоптозу у структурах плаценти проводилося А. В. Гошовською [27], яка, вивчаючи імуногістохімічні параметри стану інвазивного цитотрофобласта запально зміненої базальної пластинки плаценти у вагітних, інфікованих мікобактерією туберкульозу, встановила активацію проапоптотичного протеїну Вах на фоні незміненої концентрації протиапоптотичного протеїну Bcl-2.

АФК також відіграють важливу роль у регуляції вивільнення ендотеліального фактору von Willebrand (vW) [184], мультимерного глікопротеїну плазми, який майже завжди синтезується тільцями Weibel-Palade ендотеліальних клітин і відповідно є маркером активації або дисфункції ендотелію [132, 215, 184].

Наявність маркерів ендотеліальної дисфункції може мати потенційне клінічне значення, вимірювання яких може бути неінвазивним методом діагностики або як показник прогресування захворювання. Щодо вільнорадикальної теорії, супероксид – аніон радикала (O_2^-) вважається активатором ендотеліального екзоцитозу, в той час як пероксид водню (H_2O_2), пригнічує тромбін-індуковану секрецію фактору vW залежно від дози. З іншого боку, H_2O_2 індукує слабку секреторну реакцію. Оксид азоту (NO), ймовірно, є ще однією реактивною речовиною, яка проявляє інгібуючу дію на секрецію фактору vW [184, 185].

Проте ще багато інших речовин, які також можуть підлягати впливу вільних радикалів, регулюють вивільнення ендотеліального фактору vW, який піддається екзоцитозу у відповідь на ендогенні: запальні цитокіни, гістамін, тромбін, фібрин та екзогенні подразники – десмопресин, прив'язуючи прохідні тромбоцити до пошкодженої стінки ендотелію [240].

Крім того, незабаром після ідентифікації фактора vW як плазмового білка повідомлялося про його здатність адсорбуватися з колагенами. У результаті його взаємодії з колагеном і мікрофібрилами субендотелію відбуваються конформаційні зміни, необхідні для подальшого приєднання до глікопротеїну Іb тромбоцитів [133]. З цього можна дійти висновку, що фактор vW стає сполучним елементом між тромбоцитами та оголеним субендотеліальним шаром, що призводить до наступної активації тромбоцитарних комплексів Іb/ІІа. Тому, збільшення вмісту фактору vW в плазмі крові, поряд із підвищенням концентрації фібриногену, можна розглядати основним предиктором гіперкоагуляції [15, 121], і як наслідок, високі рівні фактору vW можуть бути корисним непрямим показником тромбозу [184, 217].

Відомо, що фактор vW бере участь ще в декількох судинних процесах: ангіогенезі та васкуляризації, проліферації гладком'язових клітин та апоптозі тромбоцитів [222, 161, 217].

У сучасній літературі з'явилися нові уявлення про фактор vW як прозапальний агент. Підвищений його рівень у плазмі зафіксований при найрізноманітніших патологічних станах: бактеріальних або вірусних інфекціях, травмах, автоімунних захворюваннях, коронарних і периферичних захворюваннях артерій, спільний прояв яких – запалення. Хоч ці захворювання не можуть бути пов'язані спільною причиною за загальною патологією запалення припускають, що запалення стане загальним стимулом для вивільнення ендотеліальними клітинами ULVWF (ультра-великого фактору vW). ULVWF здатна привести до дефіциту ADAMTS13-металопротеїнази, чия роль розщеплювати та формувати його мультимери нормальної та малої молекулярної маси. В результаті ULVWF мультимери зберігаються на ендотеліальних клітинах судин і в плазмі крові досить довго, щоб викликати адгезію і агрегацію тромбоцитів та призводити до тромбозу. Це і підтверджує зв'язок між запаленням і тромбозом [133, 262].

На підтвердження цього, Aubrey Bernardo [133] у своїх дослідженнях доводить, що запальні цитокіни ІЛ-6 та 8, є відомими агоністами

ендотеліальних тканин, справляють значний вплив на вивільнення ULVWF і активність металопротеїнази, яка розщеплює фактор vW, ADAMTS13. В ендотеліальних клітинах IL-8 зберігається в тілах Weibel-Palade разом із мультимерами ULVWF і Р-селектином. Після вивільнення він активує ендотеліальні клітини, особливо мікроциркуляторного русла та опосередковує утворення агрегатів тромбоцитокіноцитів. Т. М. Аношина [3], вивчаючи імуногістохімічні особливості структур плаценти при ВІЛ-асоційованій герпесвірусній інфекції, виявила васкулопатії з утворенням тромбів та позитивну експресію фактор von Willebrand в ендотелії судин ворсин усіх калібрів.

Гіпоксія, індукована анемією, викликає ендотеліальну дисфункцію, яка проявляється надмірним синтезом фактору vW, що підтверджується експериментально. Так, інкубація культивованих ендотеліальних клітин в умовах гіпоксії стимулювала секрецію фактора vW та збільшила більше, ніж у чотири рази його концентрацію в середовищі культивування [49].

З даних сучасної літератури морфологічне визначення фактора vW можна здійснити за допомогою імуногістохімічної методики із застосуванням первинних антитіл проти фактору von Willebrand з візуалізацією первинних антитіл полімерною системою (DAKO) з барвником діамінобензидином. Для кількісного визначення фактору von Willebrand, дану методику доцільно поєднувати з комп'ютерною мікроденситометрією з наступним визначенням оптичної густини гістохімічного забарвлення на цифрових копіях зображень. Даним методом проводилося визначення фактору von Willebrand в окремих структурах плаценти при передчасних та термінових пологах [36]. Зокрема, в ендотеліоцитах плодових кровоносних судин хоріальних ворсинок плаценти, інтервільозному фібриноїді. Ще однією локалізацією була поверхня синцитіотрофобласта хоріальних ворсинок плаценти, де місцями зазначалася вузька смужка фактору von Willebrand. За попередньою думкою науковців, це місця ушкодженої поверхні синцитіотрофобласта, на яких починаються процеси згортання

крові. Тобто фактор von Willebrand в таких випадках, напевно, вказував на ранні ушкодження трофобласта хоріальних ворсинок плаценти.

Згодом О. А. Тюленева, І. С. Давиденко [108] успішно застосували імуногістохімічну методику на фактор von Willebrand на матеріалі матково-плацентарної ділянки та міометрію вагітних. Після чого зроблений висновок, що фактор von Willebrand у матково-плацентарній ділянці та міометрії вагітних жінок методологічно допомагає оцінити процеси ангіогенезу (новоутворення судин), васкулогенезу (перебудови наявних судин), ендотеліальну дисфункцію диференційовано у різних типах кровоносних судин, процеси раннього та пізнього тромбоутворення, гестаційної перебудови спіральних артерій, утворення фібриноїду матково-плацентарної ділянки.

Провівши аналіз літератури, не знайдено жодних досліджень, які б стосувалися вивчення фактору von Willebrand при поєднанні запалення посліду та залізодефіцитної анемії вагітних.

Резюме

Проведений аналіз даних літератури свідчить про те, що як запалення посліду, так і залізодефіцитна анемія вагітних є ушкоджувальними факторами для плаценти. Спільним морфологічним проявом цих станів є плацентарна недостатність, розвиток якої викликає несприятливі наслідки для матері, плода чи новонародженого.

У сучасній літературі є дослідження, спрямовані на вивчення впливу побічного активного запального процесу різної локалізації та етіології на перебіг залізодефіцитної анемії під час вагітності, які в жодному разі не стосувалися морфології посліду при поєднанні цих станів.

Окрім цього, у публікаціях дослідників є велика кількість досліджень присвячені окремо морфології запалення посліду, зокрема хоріоамніоніту та базального децидуїту, а також змін в плаценті при ЗДАВ, які мають часом

суперечливі дані, частіше клінічно спрямовані, та не підтверджені сучасними морфологічними методами дослідження. Зокрема, не в повному обсязі вивчалися особливості колагенових волокон хоріальної та базальної пластинок плаценти, не в усіх структурах плаценти досліджувались особливості процесів окиснювальної модифікації білків та обмеженого протеолізу, не знайдено жодних даних про вивчення нітропероксидів в осередку запалення та за їх межами.

Провівши аналіз відчизняної та закордонної літератури помітили, що морфології хоріоамніоніту та базального децидуїту на тлі залізодефіцитної анемії вагітних дотепер не приділялася увага, вивчення якої є важливим для встановлення морфо-функціональних особливостей та оптимізації діагностики стану і розвитку можливих ускладнень та захворювань новонародженого. Наперед можна спробувати спрогнозувати патологічні зміни в плаценті, знайшовши дані про патофізіологічні та морфологічні зміни взаємовпливу цих станів в організмі людини при багатьох інших запальних процесах за умов відсутності вагітності, проте незаперечно стверджувати закономірність їх у плаценті при ЗДАВ не варто, адже плацента, з притаманними їй особливостями (відсутністю лімфатичних судин і нервових закінчень, імунологічних ознак, властивостей кровообігу в плодовій частині плаценти (в артеріях тече венозна, а у венах – артеріальна кров), може різко змінювати морфологію запалення посліду. Невизначеність з вищевказаних питань ускладнює патологоанатомічну діагностику плаценти і потребує розв’язання.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Дизайн дослідження

Для досягнення мети та вирішення поставлених у даній дисертаційній роботі завдань, нами проведено морфологічне дослідження 198 плацент від породіль у терміні гестації 37 – 40 тижнів. Матеріал було отримано під час морфологічних досліджень, які проводилися на базі дитячого відділення Чернівецької ОКУ «Патологоанатомічного бюро» з 2014 по 2018 рр., надіслані з пологових будинків № 1 та 2, а також гінекологічного та пологового відділення Сторожинецької ЦРЛ Чернівецької обл. Забір матеріалу здійснювався не пізніше 24 годин після пологів. Проводився також ретроспективний аналіз карт вагітних у вище зазначених відділеннях пологових будинків.

Критеріями розподілу випадків на групи були гістологічно встановлені випадки гострого та хронічного хоріоамніоніту, а також базального децидуїту у поєднанні із залізодефіцитною анемією вагітних, чи без неї. Усі спостереження поділено на 4 основні групи, кожна з яких містила по 2 групи порівняння. Розподіл плацент на відповідні досліджувані групи та сформована кількість досліджень наведені у таблиці 2.1. Для порівняння досліджено 20 плацент від породіль із фізіологічною вагітністю та 21 спостереження – з залізодефіцитною анемією вагітних (ЗДАВ) без запалення посліду (група порівняння Б).

Таблиця 2.1 – Групи дослідження

Основні групи (4 групи)	Групи порівняння (6 груп)
<i>основна група № 1</i> спостереження гострого хоріоамніоніту у поєднанні зі ЗДАВ N=21	<i>група порівняння № 1А</i> спостереження гострого хоріоамніоніту без ЗДАВ N=23
	<i>група порівняння Б</i> спостереження ЗДАВ без запалення N=21

<i>основна група № 2</i> спостереження хронічного хоріоамніоніту у поєднанні зі ЗДАВ N=21	<i>група порівняння № 2А</i> спостереження хронічного хоріоамніоніту без ЗДАВ N=20
	<i>група порівняння Б</i> спостереження ЗДАВ без запалення N=21
<i>основна група № 3</i> спостереження гострого базального децидуїту у поєднанні зі ЗДАВ N=15	<i>група порівняння № 3А</i> спостереження гострого базального децидуїту без ЗДАВ N=16
	<i>група порівняння Б</i> спостереження ЗДАВ без запалення N=21
<i>основна група № 4</i> спостереження хронічного базального децидуїту у поєднанні зі ЗДАВ N=20	<i>група порівняння № 4А</i> спостереження хронічного базального децидуїту без ЗДАВ N=21
	<i>група порівняння Б</i> спостереження ЗДАВ без запалення N=21

Проводився ретроспективний аналіз карт вагітних. Критеріями включення матеріалу в групи дослідження були переважно плаценти від пологів із клінічно діагностованим під час вагітності внутрішньоутробним інфікуванням плода, з УЗД ознаками інфекційного ушкодження внутрішніх органів плода, змінами структури та розмірів плаценти, фетоплацентарного кровотоку, плацентарною недостатністю, синдромом затримки внутрішньоутробного розвитку плода. При аналізі карт вагітних зверталась увага на наявність TORCH-інфекцій та запальних процесів репродуктивних органів під час вагітності. Аналізувались результати бактеріологічних досліджень урогенітального мазка. З метою вивчення етіологічного фактору аналізувалися результати бактеріологічних досліджень урогенітального мазка, отриманого від 80 вагітних, з яких 53 випадках (66 %) було верифіковано декілька збудників (мікст-інфекції) до прикладу, разом із *Staphylococcus spp* були наявні *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis* та *Trichomonas vaginalis*, а також інші комбінації, а лише у 27 вагітних (34 %) у результатах дослідження зазначався один інфекційний агент, серед яких:

Escherichia coli, *Gardnerella vaginalis*, *Streptococcus* групи B, *Mycoplasma hominis*, *Staphylococcus* spp., *Enterococcus faecalis*, *Trichomonas vaginalis* та *Chlamydia trachomatis*.

Згідно з даними гістологічного дослідження плацент встановлювався чи спростовувався діагноз хоріоамніоніту та базального децидуїту. ЗДАВ встановлювалася завдяки аналізу карт вагітних (лабораторні показники загального та біохімічного аналізу крові: $Hb < 110$ г/л, кількість еритроцитів $< 3,7 \cdot 10^{12}/л$, кольоровий показник $< 0,85$, гематокрит < 30 % та рівень сироваткового заліза нижче $13,0$ мкмоль/л). Досліджувану групу склали плаценти жінок, яким під час вагітності проводилося однакове, згідно з уніфікованим клінічним протоколом, лікування залізодефіцитної анемії, ступінь якої міг постійно коливатись в межах I – II.

Критеріями виключення були плаценти від вагітностей із дихоріальними діамніотичними, монохоріальними діамніотичними, монохоріальними моноамніотичними двійнями, а також плаценти від дітей із хромосомними абераціями чи вадами розвитку плода виявленими під час вагітності. До уваги також не бралися спостереження специфічного запалення в плаценті, яке виникло при туберкульозі, сифілісі та ін.

Забір матеріалу для дослідження проведено відповідно до морально-етичних вимог на підставі укладеного договору про науково-практичне співробітництво кафедри патологічної анатомії ВДНЗ України «Буковинського державного медичного університету» та відділенням дитячої патології № 1 з гістологічною лабораторією ОКМУ «Патологоанатомічне бюро».

Усі дослідження виконані з дотриманням Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, які використовують у експериментах та інших наукових цілях (від 18.03.1986 р.) «Правил етичних принципів проведення наукових медичних досліджень за участю людини», затверджених Гельсінською декларацією (1964 – 2013 рр.), ICH GCP (1996 р.), Директиви ЄЕС № 609 (від 24.11.1986 р.), наказів МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р., № 944 від 14.12.2009 р., № 616 від 03.08.2012 р. Комісією з біоетики ВДНЗ України

«Буковинський державний медичний університет» порушень не виявлено (протокол № 4 від 19 грудня 2019 р.).

Окрім того, вивчали частоту запалень посліду різної локалізації на матеріалі спостережень бюро та ЗДАВ за даними Департаменту охорони здоров'я Чернівецької обл. 2013 – 2017 рр., з метою обґрунтування доцільності проведення наших досліджень.

2.2 Методи дослідження

2.2.1 Органометричне дослідження плацент

Дослідження плаценти проводилося відповідно до наказу МОЗ України № 417 від 19.08.2004 р. (форма № 013–2/0) «Протокол патологоанатомічного дослідження посліду» [97].

При морфометричному дослідженні плацент дотримувалися методичних рекомендацій щодо стандартизації методів морфометрії плаценти, запропонованих А. П. Миловановою і А. І. Брусиловським [89]. Спочатку оглядали материнську поверхню плаценти: звертали увагу на цілісність органа, оцінювали величину і кількість плацентарних часточок, глибину міждолькових борозен, визначали зони різного кольору і щільності, наявність свіжих і старих згортків крові. Під час огляду плодової поверхні вивчали колір плацентарного амніону, наявність кіст, пухлин, ознаки травматичного ушкодження. При дослідженні плодових оболонок звертали увагу на їх колір, товщину, наявність набряку, вогнищевих потовщень, на місце прикріплення пупкового канатика (центральне, крайове, парацентральне, оболонкове) та наявність вузлів, гематом. Щодо материнської поверхні плаценти розтинали паралельними перерізами через усю товщину на пластини завширшки 1,0 см. Вивчали кровонаповнення тканини та її колір, кількість, локалізацію та розміри інфарктів (якщо вони були), міжворсинчастих тромбів.

Вивчення органогенезу посліду, з огляду на мету нашого дослідження, передбачало визначення основних органометричних параметрів плацент, яке

охоплювало вимірювання маси плаценти, середнього арифметичного товщини, об'єму органу та площі материнської поверхні плаценти [41]:

- масу плаценти вимірювали без пупкового канатика й оболонок;
- середню арифметичну товщину плаценти (H_{am}) вимірювали за допомогою модифікованого традиційного методу за І. С. Давиденком [41] за формулою

$$H_{am} = \frac{\sum H_i}{14},$$

де H_i – величина замірів товщини плаценти в різних її відділах.

Методика полягає в тому, що параметри товщини знімали, спеціальним консольним пристроєм, який допомагає вимірювати з точністю до 0,01 см у 14 позиціях (з рівномірним представництвом центральних, парацентральных та периферичних відділів органа). Аналіз товщини здійснювався з застосуванням статистичних методів і враховуванням середньої арифметичної товщини.

- площу (S) материнської поверхні плаценти вимірювали методом точкового рахунку в см^2 за допомогою прозорої сітки [41]. На сітку було нанесено 400 рівновіддалених (через 1 см) крапок ;
- Об'єм органа визначали за формулою:

$$V = S \cdot H_{am},$$

де S – площа поверхні плаценти,

H_{am} – середня арифметична товщина плаценти.

Застосування саме такого методу вимірювання об'єму плаценти зумовлене геометричними властивостями цього органа.

2.2.2 Оглядові гістологічні методи

Для морфологічного дослідження плаценти бралось 6 – 8 шматочків плаценти із захопленням плодової та материнської поверхонь (із параумбілікальної, центральної та крайової зон) із наступною фіксацією

матеріалу на 48 годин у 10 %-му нейтрально забуференому розчині формаліну. Далі за стандартною схемою проводили зневоднювання у спиртах зростаючої концентрації та парафінову заливку за температури 64 °С. На санному мікротомі робили серійні гістологічні зрізи товщиною 5 мкм.

Забарвлення препаратів гематоксилином і еозином загальноприйнятим методом [9] виконували з оглядовою метою для загальної оцінки стану досліджуваних тканин та ідентифікації необхідного патологічного процесу. В роботі використовували готові розчини гематоксиліну Харріса та 0,5 %-го спиртового розчину еозину.

2.2.3 Гістохімічні, імуногістохімічні та хемілюмінесцентні методи дослідження

Для усіх гістохімічних методів дослідження шматочки плаценти фіксували протягом 48 годин у 10 %-му нейтрально забуференому розчині формаліну. Далі за стандартною схемою проводили зневоднювання у спиртах зростаючої концентрації та парафінову заливку за температури 64 °С. Специфічну гістохімічну реакцію виконували на серійних гістологічних зрізах завтовшки 5 мкм, зроблених на санному мікротомі (МС-2).

Гістохімічне дослідження проводили чотирма методами: за Н.З. Слінченком, Бонхегом, Mikel Calvo та А. Yasuma та Т. Ichikava.

Методику за Н.З. Слінченко виконували для кращої ідентифікації фібрину та колагенових волокон із забарвленням «хромотропом-2В»-водним блакитним після протравлення фосфорно-вольфрамовою кислотою. Гістохімічну методику на загальний білок виконували з використанням 2 %-го водного розчину оцтової кислоти з 1 %-го – сулеми та 0,05 %-го розчину бромфенолового синього за Бонхегом [9, 87]. За методом А. Yasuma та Т. Ichikava оцінювали ступінь обмеженого протеолізу за допомогою нінгідриново-шифововської реакції на вільні аміногрупи білків [70, 87].

Гістохімічну методику за методом Mikel Calvo, яка дає змогу визначити ступінь окиснювальної модифікації білків, виконували в модифікації I.C. Давиденка [29, 30, 32, 35, 114], яка після фіксації матеріалу у 10 %-му водному нейтральному розчині формаліну 24 години, етанолової дегідратації та заливки в парафін за стандартною процедурою, охоплювала 4 етапи: 1) гістохімічний етап (забарвлення бромфеноловим синім за Mikel Calvo); 2) оптичний етап (застосування мікроскопічної оптики); 3) фотографічний етап (застосування цифрового фотодокументування); 4) комп'ютерний мікроспектрометричний етап (аналіз кольору на цифрових мікрофотографіях) [29, 35].

Щодо останнього етапу варто розкрити сутність методики, яка полягає в тому, що бромфеноловий синій при дотриманні певних процедур фарбування диференційовано забарвлює так звані «кислі» та «основні» білки. Зокрема, «основні» білки (переважання аміногруп над карбоксильними та гідроксильними групами) забарвлюються у синій колір, «кислі» (переважання карбоксильних та гідроксильних груп білків над аміногрупами) – у червоний. Кількісну оцінку кольорів здійснювали методом комп'ютерної мікроспектрофотометрії на цифрових копіях зображень у середовищі комп'ютерної програми ImageJ, яка спроможна виконати спектральний диференційний аналіз трьох компонентів кольору за системою оцінки кольорів RGB (від англ. – «Red», «Green», «Blue»). Фінальним результатом дослідження було одержання показника (коефіцієнта) R/B, який власне і є кількісним показником співвідношення між аміно- та карбоксильними групами білків і ступеня окиснювальної модифікації білків [29].

Імуногістохімічну методику виконували для визначення фактору von Willebrand, проапоптотичного протеїну Вах, після фіксації плацент протягом 20 – 22 годин у забуференому нейтральному 10 %-му розчині формаліну із наступним зневоднюванням у спиртах зростаючої концентрації і заливкою у парафін за 56 °С. Після депарафінізації серійних зрізів завтовшки 5 мкм, які монтували на неімуногенні предметні скельця німецького виробництва SuperFrost®Plus, провели реакцію із застосуванням первинних моноклональних антитіл

(DakoCytomation (DenmarkUSA) проти фактору von Willebrand, та Вах з візуалізацією первинних антитіл полімерною системою (DAKO) з барвником діамінобензидином. Дофарбовування ядер здійснювали гематоксилином Майєра [87, 109, 144, 163].

Хемілюмінесцентним методом визначали нітропероксиди у досліджуваних структурах. Необхідність застосування саме цього методу полягає у тому, що природна генерація вільних радикалів клітинами хоча супроводжується люмінесценцією, але вона настільки слабка, що без підсилення, її реєстрація є ненадійною.

Для підсилення люмінесценції заморожені зрізи плаценти обробляли 5 хвилин (37 °C) розчином люмінолу у суміші зі стабілізаторами згідно пропису. Одразу, не змиваючи розчин, вивчали препарати в мікроскопі ЛЮМАМ-Р8 з негайною фотофіксацією світіння цифровою камерою за стандартних умов протягом 5 хвилин, коли світіння залишається стабільним (однаковим). Далі цифрові копії зображень аналізували в комп'ютерній програмі ImageJ (1.48, W. Rasband, National Institutes of Health, USA), визначаючи інтенсивність світіння в умовних одиницях за допомогою інструмента «Яскравість» беручи до уваги тільки максимальну величину [2, 9, 19].

2.2.4 Морфометричні методи дослідження

З метою об'єктивізації кількісних досліджень проводили комп'ютерну морфометрію об'єктів у гістологічних, гістохімічних та імуногістохімічних препаратах. Для цього спочатку отримували цифрові копії оптичного зображення ділянок мікроскопічних препаратів за допомогою мікроскопа Delta Optical Evolution 100 (планахроматичні об'єктиви) та цифрової камери Olympus SP-550UZ при використанні різних об'єтивів мікроскопа залежно від цілей аналізу (окуляр 10^x, об'єтивів 10^x – 20^x – 40^x).

Отримані цифрові копії зображення аналізували за допомогою ліцензійної копії комп'ютерної програми Image J (1.48, W. Rasband, National Institutes of Health, USA) відповідно до поставленої мети. Так, для вимірювання

ступеня окиснювальної модифікації білків через комп'ютерну мікроспектрофотометрію визначали спектральні характеристики (розкладення кольору об'єкта на дві складові – червону та синю, з кількісною оцінкою кожної ділянки спектра) у системі оцінки кольору RGB за алгоритмом [32]. За допомогою комп'ютерної мікроденситометрії визначали оптичну густину на фотокопіях гістологічних зображень імуногістохімічного методу дослідження на визначення фактору von Willebrand, протеїну Вах (з візуалізацією первинних антитіл полімерною системою DAKO з барвником діамінобензидином) та гістохімічних: за методом Бонхега (на загальний білок) і А. Yasuma та Т. Ichikawa (для оцінки обмеженого протеолізу). Оптичну густину гістохімічного забарвлення вимірювали у відносних одиницях оптичної густини в діапазоні від 0 – відсутність забарвлення, абсолютна прозорість, до 1 – максимальне забарвлення, абсолютна непрозорість, на підставі логарифмічних перетворень величини яскравості у градаціях від 0 до 255.

На отриманих зображеннях зразків хемілюмінесцентного методу дослідження шляхом комп'ютерної оцінки визначали інтенсивність світіння за шкалою у 256 градацій – від 0 (показник відсутності світіння) до 255 (максимальна інтенсивність світіння), що дало можливість здійснити кількісні вимірювання люмінесценції (умовні одиниці світіння).

2.2.5 Статистичні методи обробки матеріалу

Статистичну обробку цифрових даних здійснювали на персональному комп'ютері залежно від конкретного завдання певного фрагмента дослідження за допомогою вільної для використання ліцензійної копії комп'ютерної програми PAlaeontological STatistics (PAST) v3.15 [162].

Планування необхідної кількості спостережень у кожній групі дослідження обчислювали на підставі обрахунків достатньої кількості для конкретного застосованого статистичного методу при рівні чутливості – 0,80 та рівня значущості $p=0,05$.

Вираховували середнє арифметичнє та його похибку ($M \pm m$). Для статистичної обробки матеріалів дослідження використовувалися такі методи статистичного аналізу. Розбіжність у середніх значеннях перевіряли за допомогою непарного t-критерію Стюдента після позитивної перевірки вибірки на нормальність розподілу в ній за критерієм Shapiro-Wilk. Кореляційний аналіз проводився за методом Пірсона (r).

Усі статистичні характеристики, які наводяться в результатах дослідження, таблицях і графіках, включають: кількість спостережень (n), середнє арифметичнє (M), стандартну похибку середньої величини (m), довірчий інтервал (95 % ДІ), рівень статистичної значущості (p). Критичне значення рівня значущості (p) приймалося при $p \leq 0,05$, у разі отримання значення $p > 0,05$ різниця між величинами вважалася недостовірною [71].

2.3 Статистичний аналіз випадків хоріоамніоніту, базального децидуїту та залізодефіцитної анемії вагітних по Чернівецькій області

Залізодефіцитна анемія (ЗДА) – актуальна проблема екстрагенітальної патології в акушерстві, оскільки частота цієї патології з кожним роком зростає. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я ЗДА діагностовано в 1,62 млрд населення землі, при цьому показник у вагітних становить 43,9 млн осіб або – 51 % серед усіх вагітних.

Серед запальних процесів у плаценті значне місце посідає хоріоамніоніт та базальний децидуїт, який становить велику небезпеку не тільки для нормального розвитку вагітності та стану новонароджених, а й для репродуктивного здоров'я жінок, створюючи труднощі в подальшій реалізації їх дітородної функції. За даними авторів, у світі частота хоріоамніоніта коливається в діапазоні від 0,9 до 10,5 %, а базального децидуїту – 4,8 – 8,9 % вагітностей [178, 204, 248, 253].

Для обґрунтування актуальності проведення нами досліджень вивчалася частота запалень посліду різної локалізації на матеріалі

спостережень відділення дитячої патології Чернівецької обласної комунальної медичної установи «Патологоанатомічне бюро» за 2013 – 2017 рр. та ЗДАВ у Чернівецькій області.

Попередньо, для можливості проведення аналізу, отримано відомості щодо дітонароджуваності за досліджуваний період. Так, за даними бюро в 2013 р. народжено 11581 дитина, в 2014 р. цей показник сягнув 11533 дитини, в 2015 р – 10639, 2016 р. – 11236, а в 2017 р. – 9387. Загальна кількість ЗДАВ, за даними Департаменту охорони здоров'я Чернівецької обл., хоріоамніоніту та базального децидуїту наведені у таблиці.

Таблиця 2.2 – Частота залізодефіцитної анемії та запалення посліду

Загальна кількість пологів на рік	Частота ЗДАВ Од./%	Загальна кількість запалень посліду різної локалізації	Хоріоамніоніт Од./%	Базальний децидуїт Од./%
2013 рік 11581	3997 *(34,5 %)	1126 *(9,72 %)	132 *(1,13 %) **(11,72 %)	289 *(2,49 %) **(25,66 %)
2014 рік 11533	4349 *(37,7 %)	1008 *(8,74 %)	168 *(1,45 %) **(16,6 %)	341 *(2,95 %) **(33,82 %)
2015 рік 10639	4187* (39,3 %)	796 *(7,48 %)	64 *(0,60 %) **(8,04 %)	169 *(1,58 %) **(21,23 %)
2016 рік 11236	4512 (40,1 %)	904 *(8,04 %)	83 *(0,73 %) **(9,18 %)	192 *(1,70 %) **(21,23 %)
2017 рік 9387	3938 (41,9 %)	1109 *(11,81 %)	85 *(0,90 %) **(7,66 %)	221 *(2,35 %) **(19,92 %)

Примітка: *відсоткове співвідношення від загальної кількості пологів;
**відсоткове співвідношення від загальної кількості запалень посліду.

Із зазначених даних з року в рік можна помітити високу та доволі сталу частоту залізодефіцитної анемії вагітних та запалення посліду. Спостерігається тенденція до зростання частоти ЗДАВ з найбільшою кількістю в 2017 році. Найвищі показники хоріоамніоніту були в 2013 та 2014 роках із наступною тенденцією до зниження, а базального децидуїту – в 2014 році.

Варто зазначити, що під час аналізу щорічних звітів патологоанатомічного бюро, привертає увагу висока частота саме поєднаних запальних процесів плаценти, які також могли містити ознаки як хоріоамніоніту, так і базального децидуїту та, ймовірно, вплинути на статистичні показники кожного з них. Так, у 2013 році їх кількість досягнула 426, що становить 37,8 % від усіх випадків запалення посліду та 3,67 % від усіх пологів. В 2014 р. – 483 випадки (47,91 % / 4,1), а в 2015 р – 384 (48,20 % / 3,6 %), 2016 р. – 316 (34,95 % / 2,8 %) та з найбільшими кількісними показниками в 2017 р. – 561 (50,58 % / 5,97 %).

РОЗДІЛ 3

МОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПЛАЦЕНТ ПРИ ФІЗІОЛОГІЧНІЙ ВАГІТНОСТІ ТА ВІД ПОРОДІЛЬ З ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНОЮ АНЕМІЄЮ (ГРУПИ ПОРІВНЯННЯ)

У даному розділі нами представлені результати гістологічного, органометричного, хемілюмінесцентного, гісто- та імуногістохімічного

методів дослідження плацент, отриманих від породіль із фізіологічною вагітністю. Окрім того, задля можливості інтерпретації отриманих результатів дослідження при гострих і хронічних формах хоріоамніоніту та базального децидуїту при коморбідній ЗДАВ, нами надано морфологічну характеристику плацент від породіль із клінічно діагностованою залізодефіцитною анемією вагітних.

3.1 Морфологічна характеристика плацент при фізіологічній вагітності

У групі плацент фізіологічної вагітності макроскопічно встановлено, що у 18 (90 %) випадках вони були овальної та у 2 (10 %) округлої форм. Хоріальна пластинка сірого кольору, гладенька та блискуча. Прикріплення пупкового канатика в усіх випадках спостерігалось по центральному типу. Оболонки сірувато-рожевого кольору, тонкі, напівпрозорі, без патологічних включень і ущільнень. Базальна пластинка плаценти сірувато-червоного кольору, дрібно- або середньочасточкова, в деяких місцях кордони часточок контурувалися нечітко. На їх поверхні виявлялися згортки крові та дрібні осередки кальцинозу розміром від 3 до 10 мм у вигляді чітко відмежованих ущільнень білясто-сірого кольору. На розрізі тканина плаценти темно-червона, губчастої структури, подекуди з незначними дрібними осередками некрозу неправильної форми.

Результати проведеного органометричного дослідження плаценти показали, що середня маса плацент фізіологічної вагітності становила $454,5 \pm 5,58$ г, товщина – $2,56 \pm 0,08$ см, площа материнської поверхні – $262,73 \pm 7,95$ см², а об'єм органа – $685,9 \pm 38,66$ см³.

Усередненні показники маси новонароджених дітей, отримані при ретроспективному аналізі карт вагітних, становили – $3412,0 \pm 36$ г, а оцінка за шкалою Апгар – $8,32 \pm 0,15$.

При гістологічному дослідженні зрізів плацент даної групи, забарвлених гематоксиліном та еозином, нами отримано дані, які відповідають загальновизнаному уявленню про фізіологічну норму [24, 132]. Так, плаценти були звичайної будови, зміни виявлялися тільки у вигляді інволютивно-деструктивних процесів. В хоріальній пластинці плаценти, що помітно на отриманих мікрофотографіях (рис. 3.1), візуалізуються три шари: мезодермальна основа амніона (МОА), спонгіозний шар (СШХП) та мезодермальна основа хоріальної пластинки плаценти (МОХП), яка переходила у базальну мембрану. На базальній мембрані розташовується шар первинного цитотрофобласта, побудований клітинами округлої форми з гіперхромними ядрами невеликих розмірів. Внутрішня поверхня хоріальної пластинки вистелена щільним шаром Лангханса, який являє собою фібриноїд, межуючи з міжворсинчастим простором.

У базальній пластинці (рис. 3.1) плаценти ідентифікували децидуоцити різних форм і розмірів (округлі, овальні або веретеноподібні) світлого та темного забарвлення, які формують сітчастоподібні, за рахунок наявності обідка навколо кожної децидуальної клітини, пласти. Інколи поруч із децидуоцитами візуалізуються тяжі трофобластних клітин, які варто віддиференційовувати наявністю, в одних випадках, світлої цитоплазми, а в інших – це полігональні інтенсивно забарвлені клітини. Як децидуоцити, так і цитотрофобластні клітини відокремлені вираженими прошарками фібриноїду. Внутрішня поверхня базальної пластинки плаценти, вистелена поверхневим фібриноїдом Рора, який безпосередньо межує з міжворсинчастим простором.

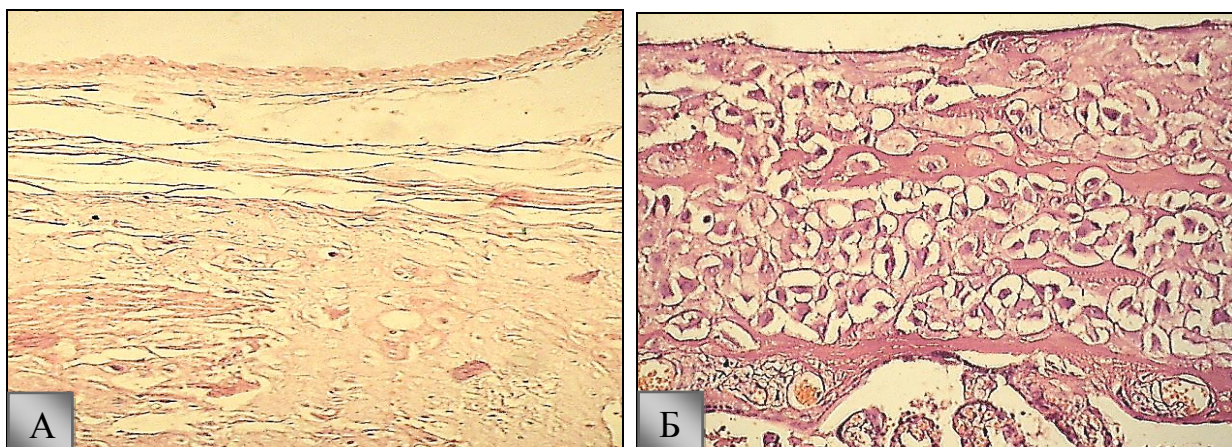


Рисунок 3.1 – Фізіологічна вагітність. А – хоріальна пластинка плаценти. Збільшення: Об.20^x.Ок.10^x. Б – базальна пластинка плаценти. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення: Об.40^x.Ок.10^x

Для кращого ідентифікування колагенових волокон хоріальної та базальної пластинок плаценти, із визначенням кількісних показників питомого об'єму й оптичної густини, здійснювали забарвлення гістологічних препаратів хромотропом-водним блакитним за Н.З. Слінченко (рис. 3.2).

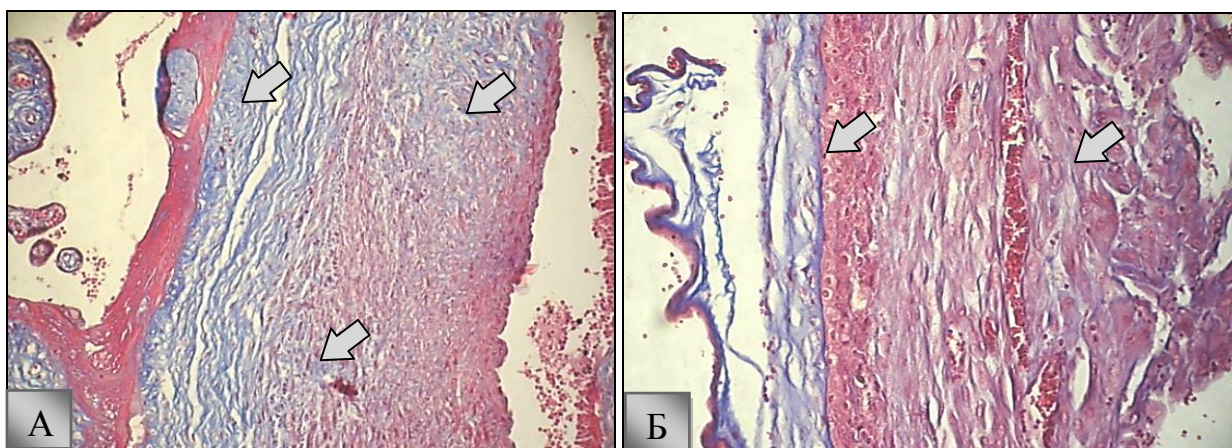


Рисунок 3.2 – Гістохімічне забарвлення колагенових волокон хоріальної (А) та базальної (Б) пластинок плаценти (↑). Забарвлення хромотропом-водним блакитним за Н.З. Слінченко. Збільшення: Об.20^x.Ок.10^x

За допомогою даної методики еритроцити забарвлювалися у яскраво-червоний колір, інші клітини, зокрема їх ядра та цитоплазма, у відтінки кольорів від блакитного до пурпурового. Колагенові волокна були представлені у вигляді лінійно розташованих нитчастих структур, що не гілкуються та забарвлюються у інтенсивно-синій колір і мають періодично темні та світлі ділянки. При забарвленні гістологічних препаратів хромотропом-водним блакитним вдалося від диференціювати три шари ХП (МОА, СШ, МОХП) із наступним кількісним вимірюванням (окремо в кожному) оптичної густини та питомого об'єму колагенових волокон.

Результати кількісного вимірювання питомого об'єму й оптичної густини гістохімічного забарвлення колагенових волокон хоріальної та базальної пластинок плаценти при фізіологічній вагітності наведені в таблиці (табл. 3.1)

Таблиця 3.1 – Кількісні показники питомого об'єму та оптичної густини гістохімічного забарвлення колагенових волокон плаценти при фізіологічній вагітності ($M \pm m$)

Структура плаценти		Колагенові волокна	
		Питомий об'єм (%)	Оптична густина (од. опт. густ.)
Хоріальна пластинка плаценти	Мезодермальна основа амніона	$27 \pm 0,5$	$0,312 \pm 0,0026$
	Спонгіозний шар хоріальної пластинки	$4 \pm 0,3$	$0,309 \pm 0,0024$
	Мезодермальна основа хоріальної пластинки	$28 \pm 0,5$	$0,311 \pm 0,0028$
Базальна пластинка плаценти		$8 \pm 0,4$	$0,186 \pm 0,0019$

Отримані дані демонструють найвищі показники питомого об'єму та оптичної густини гістохімічного забарвлення колагенових волокон у

мезодермальній основі амніона та хоріальної пластинки плаценти, що зумовлено анатомічною особливістю будови плаценти.

З метою вивчення процесів окиснювальної модифікації білків в окремих структурах базальної та хоріальної пластинок плаценти мікроспектрометричним методом було проведено визначення коефіцієнта R/V на цифрових копіях зображень після виконання гістохімічної методики на «кислі» та «основні» білки з бромфеноловим синім за Mikel Calvo. Коефіцієнт R/V служив показником співвідношення між аміно- та карбоксильними групами в білках конкретної локалізації, тобто був мірою ОМБ.

При візуальній оцінці отриманих гістохімічних препаратів встановлено, що децидуцити доволі чітко забарвлюються, тобто придатні для кількісного дослідження, причому межі клітин визначаються однозначно завдяки підкреслено чіткому забарвленню клітинної оболонки та контрастного забарвлення фібриноїду навколо децидуоцитів (рис. 3.3). Також у децидуцитах достатньо добре візуалізуються клітинні ядра і навіть їхні ядерця. Згідно з коефіцієнтом R/V у нуклеоплазмі переважали «основні» білки, а в ядерцях – «кислі» білки. Різниці між групами дослідження за коефіцієнтом R/V у нуклеоплазмі та ядерцях децидуоцитів не виявлено, тому такі цифрові дані не наводяться.

Щодо цитоплазми децидуальних клітин, то насамперед варто зазначити, що специфічне забарвлення мало переважно гранулярний характер, лише іноді – дифузний, а спектральні характеристики й оптична густина забарвлення доволі сильно варіювали поміж індивідуальними показниками різних плацент та середніми показниками в групах дослідження.

Важливим для вивчення є фібриноїд як базальної, так і хоріальної пластинок плаценти, адже він поліморфне багатокomпонентне утворення, розташоване між різними структурами – клітинами, судинами, сполучнотканинними волокнами. До складу фібриноїду, залежно від умов

його формування, можуть входити: фібрин, інтегринові молекули, продукти розкладу еритроцитів, трофобласта, децидуоцитів, білки плазми крові тощо [132, 217]. Усі названі елементи перебувають у стані постійної модифікації, зокрема під впливом вільнорадикальних процесів [17, 112], що може позначатися на процесах ОМБ.

При візуальній оцінці гістохімічних препаратів (рис. 3.3), забарвлених за Mikel Calvo, видно, що фібриноід базальної та хоріальної пластинок чітко забарвлюється, добре упізнається завдяки характерній локалізації і неправильній формі. Навіть без кількісного дослідження помітно, що фібриноід забарвлюється в кольори, де переважає червоний компонент.

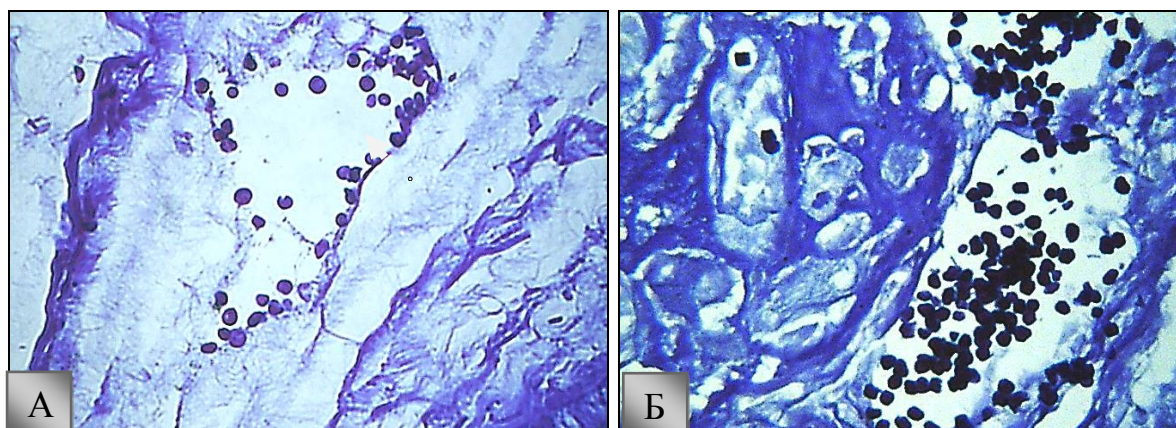


Рисунок 3.3 – Забарвлення на аміно- та карбоксильні групи білків у структурах хоріальної (А) та базальної (Б) пластинок плаценти при фізіологічній вагітності. Гістохімічна методика за Mikel Calvo. Збільшення: Об.40^x.Ок.10^x

Ендотеліоцити кровоносних судин плаценти виявляють у спіральних артеріях, венах, венулах і капілярах [132, 217]. Морфологічний опис будови ендотеліоцитів при застосуванні методики з бромфеноловим синім за Mikel Calvo раніше не виконувався. При візуальній оцінці нами встановлено, що ендотеліоцити доволі чітко пофарбовуються, добре розпізнаються завдяки характерній локалізації, тобто придатні для кількісного дослідження. Цитоплазма ендотеліоцитів забарвлюється переважно дифузно, хоч іноді можна спостерігати окремі, більш темні гранулярні утворення. Ядра

ендотеліоцитів не візуалізуються – зображення ядра клітини зливається з цитоплазмою. Це відрізняє ендотеліоцит від багатьох інших видів клітин. Тому співвідношення «кислих» та «основних» білків в ендотеліоциті гістохімічно не можна вивчити диференційовано для цитоплазми і клітинного ядра, тобто тільки разом, загально.

Іншою особливістю забарвлення гістохімічних препаратів при застосуванні методики Mikel Calvo є те, що межа між ендотеліоцитами і базальною мембраною або зовсім не визначається, або визначається нечітко. З цієї причини для отримання відомостей, а саме стосовно ендотеліоцитів, при виконанні зондових замірів необхідно зробити певний допуск, щоб тестовий зонд не містив даних щодо базальної мембрани, а тільки щодо ендотеліоциту. Усі вимірювання, наведені в наших результатах дослідження, зроблені відповідно до вищезазначених установлених нами особливостей фарбування ендотеліоцитів при застосуванні методики Mikel Calvo.

Середні кількісні показники коефіцієнта R/V при фізіологічній вагітності в окремих структурах хоріальної та базальної пластинок плаценти подані у таблиці (табл. 3.2).

Таблиця 3.2 – Коефіцієнт R/V в окремих структурах базальної та хоріальної пластинок плаценти при фізіологічній вагітності ($M \pm m$)

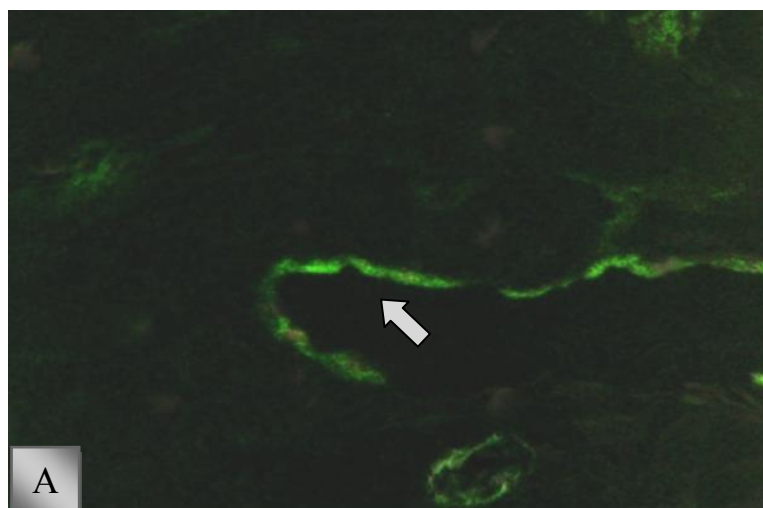
Група дослідження	Структури плаценти				
	Ендотеліоцити кровоносних судин хоріальної пластинки плаценти	Фібриноїд хоріальної пластинки	Ендотеліоцити кровоносних судин базальної пластинки	Фібриноїд базальної пластинки	Децидуальні клітини базальної пластинки
Спостереження фізіологічної вагітності (n=20)	0,81±0,018	0,94±0,021	1,05±0,012	1,25±0,011	1,04±0,008

Зокрема, з даних таблиці видно, що при фізіологічній вагітності найвищі величини коефіцієнта R/V мали структури базальної пластинки плаценти. Найвиразніше процеси ОМБ відбувалися у фібриноїді, з відносно однаковим рівнем у децидуоцитах та ендотеліоцитах кровоносних судин.

Оскільки ОМБ у клітинах виникає під дією вільних радикалів [78, 79, 74], з метою визначення нітропероксидів як найбільших довгожителів із вільних радикалів, здатних долати порівняно значні дифузійні дистанції і тому спроможні викликати реальну патологію в глибині тканини, а не тільки на поверхнях [25], провели хемілюмінесцентний метод дослідження (рис. 3.4) з люмінолом, із наступним вимірюванням інтенсивності світіння (умовні одиниці світіння).

Позитивну реакцію з люмінолом вдалося виявити в ендотеліоцитах кровоносних судин плаценти та в децидуальних клітинах базальної пластинки.

Середні кількісні показники, за результатами проведених досліджень в ендотеліоцитах кровоносних судин хоріальної пластинки становили $18 \pm 4,8$ ум. од. св., що підтверджується при візуальній оцінці ледве помітною інтенсивністю порівняно з ендотеліоцитами базальної пластинки – $33 \pm 3,8$ ум. од. св. Кількісні показники інтенсивності хемілюмінесцентного світіння нітропероксидів у децидуоцитах базальної пластинки плаценти дорівнювали $34 \pm 3,8$ ум. од. св.



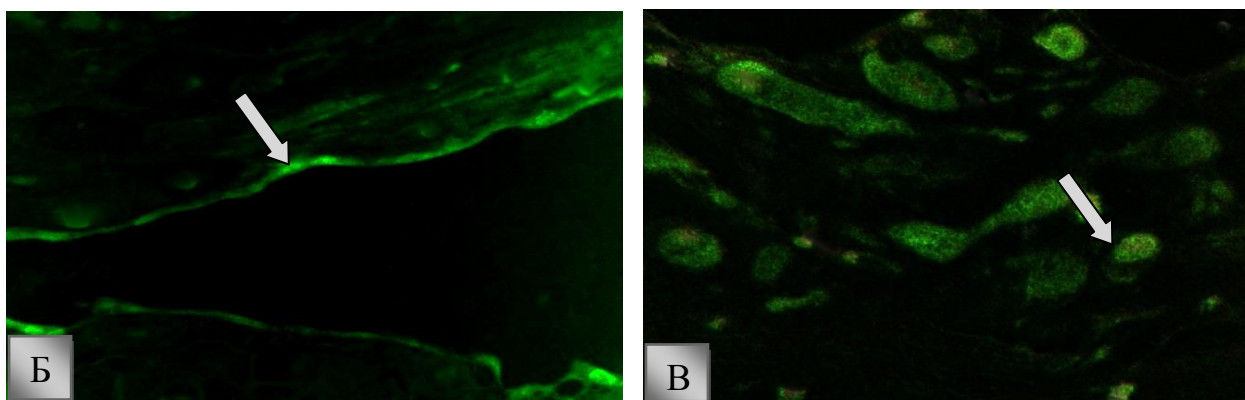


Рисунок 3.4 – Хемілюмінесцентне світіння нітропероксидів при фізіологічній вагітності ($\uparrow$). А – ендотелій кровоносної судини хоріальної пластинки.

Б – ендотелій кровоносної судини базальної пластинки. В – децидуоцити базальної пластинки. Хемілюмінесцентне дослідження з люмінолом.

Збільшення: Об.40^x.Ок.10^x

Відомо, що за багатьох патологічних процесів, як правило, підвищується рівень вільних радикалів кисню, які окиснюючи аміногрупи білків, змінюють властивості цих макромолекул [28]. Інтенсифікація процесів окиснювальної модифікації білків може супроводжуватися посиленими процесами обмеженого протеолізу.

Для вивчення цих процесів, виконували гістохімічну методику за методом А. Yasuma та Т. Ichikawa, яка дозволяє із застосуванням нінгідриново-шифововської реакції специфічно зафарбовувати вільні NH_2 (аміногрупи) білків. Візуальна оцінка отриманих гістологічних препаратів дає можливість ідентифікувати специфічне гістохімічне забарвлення в фібриноїді, ендотеліоцитах кровоносних судин та децидуальних клітинах досліджуваних структур плаценти (рис. 3.5).

Для можливості інтерпретації отриманих даних щодо обмеженого протеолізу додатково було проведено кількісне визначення загального білка гістохімічним методом з бромфеноловим синім за Бонхегом. При цьому статистичних змін показників у вищезазначених структурах між групами дослідження не відбувалося, тому такі числові дані винесені в додаток Е.

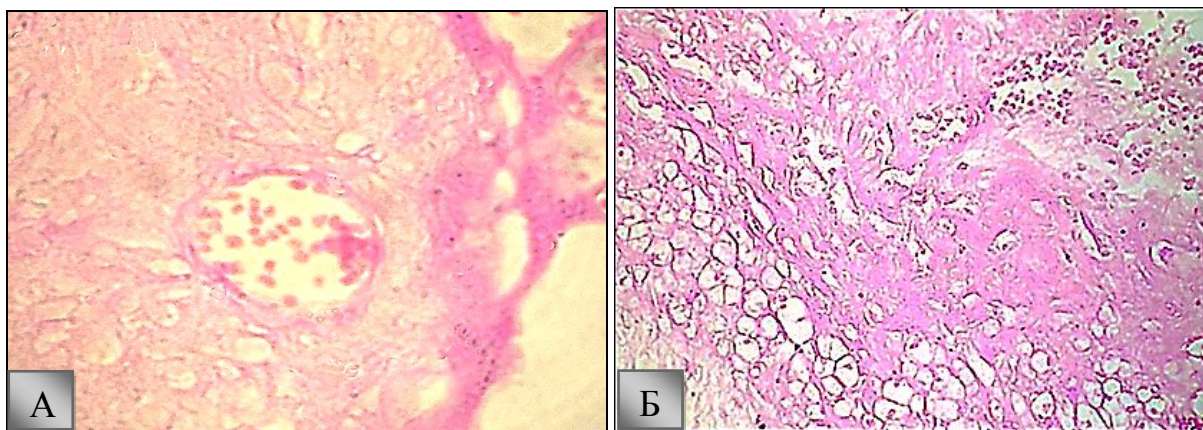


Рисунок 3.5 – Специфічне забарвлення на вільні NH_2 групи білків при фізіологічній вагітності. А – структури хоріальної пластинки. Збільшення: Об.40^x.Ок.10^x. Б – структури базальної пластинки плаценти. Нінгідриново-шиффовська реакція за методом А. Yasuma та Т. Ichikawa. Збільшення: Об.20^x.Ок.10^x

Середні кількісні показники оптичної густини гістохімічного забарвлення наведені в таблиці (табл. 3.3)

Таблиця 3.3 – Показники оптичної густини гістохімічного забарвлення на вільні аміногрупи білків у структурах базальної та хоріальної пластинок плаценти при фізіологічній вагітності ($M \pm m$)

Група дослідження	Структури плаценти				
	Ендотеліоцити кровоносних судин хоріальної пластинки	Фібриноід хоріальної пластинки	Ендотеліоцити кровоносних судин базальної пластинки	Фібриноід базальної пластинки	Децидуоцити базальної пластинки
Спостереження фізіологічної вагітності (n=20)	0,164±0,0019	0,285±0,0024	0,165±0,0018	0,289±0,0021	0,168±0,0017

Показано, що згідно із середніми величинами оптичної густини забарвлення при фізіологічній вагітності найінтенсивніше обмежений протеоліз зростав у фібриноїді хоріальної та, дещо менше, базальної пластинок плаценти.

Активні форм кисню регулюють вивільнення ендотеліального von Willebrand. Наприклад, супероксид-аніон радикала (O_2^-) вважається активатором ендотеліального екзоцитозу, а пероксид водню (H_2O_2), пригнічує тромбін-індуковану секрецію фактору von Willebrand залежно від дози. З іншого боку, H_2O_2 індукує слабку секреторну реакцію [217].

Під час проведених імуногістохімічних досліджень на фактор von Willebrand, який використовували як маркер активації або дисфункції ендотелію [132], також для вивчення процесів ангіогенезу, васкуляризації та проліферації, встановлено, що специфічне імуногістохімічне забарвлення визначалося в кількох структурах плаценти: в ендотеліоцитах кровоносних судин, фібриноїді різної локалізації, а іноді – на поверхні трофобласта хоріальних ворсинок плаценти.

При фізіологічній вагітності в ендотелії кровоносних судин (рис. 3.6) інтенсивність забарвлення на фактор von Willebrand було більш виражене порівняно з фібриноїдом, при цьому ступінь забарвленості помітно варіював серед ендотеліоцитів кровоносної судини, хоча мав досить регулярний характер.

Щодо фібриноїду як хоріальної, так і базальної пластинок, то зауважимо, що фактор von Willebrand у ньому візуалізувався, як правило, у формі ниткоподібних хаотично орієнтованих структур.

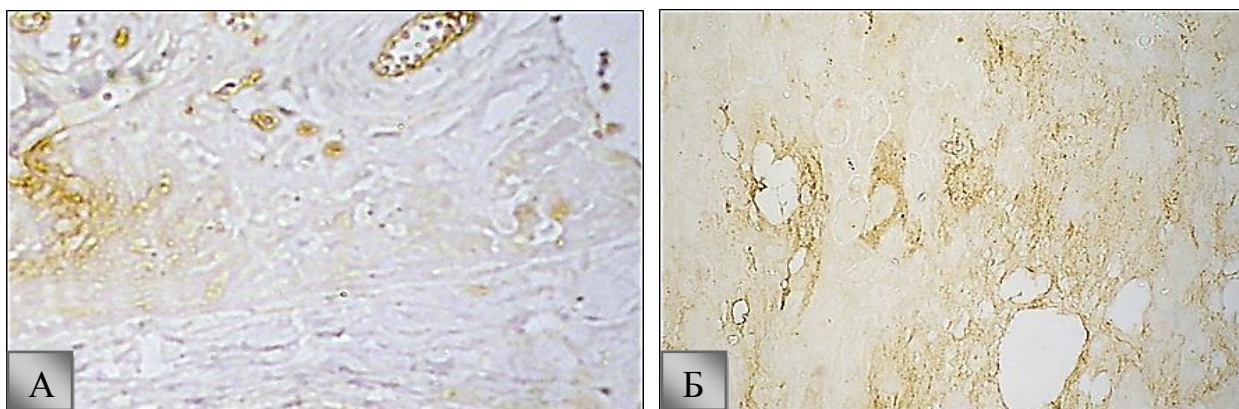


Рисунок 3.6 – Експресія фактору von Willebrand в ендотелію кровоносних судин та фібриноїді при фізіологічній вагітності. А – хоріальна пластинка плаценти. Б – базальна пластинка плаценти. Імуногістохімічна методика. Збільшення: Об.20^x.Ок.10^x

Результати кількісних параметрів оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на фактор von Willebrand цитоплазми ендотеліоцитів та фібриноїду хоріальної та базальної пластинок при фізіологічній вагітності наведені в таблиці (табл. 3.4). Дані показники важливі для оцінки величини оптичної густини імуногістохімічного забарвлення як показника рівня фактору von Willebrand.

Таблиця 3.4 – Показники оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на фактор von Willebrand у структурах плаценти при фізіологічній вагітності ($M \pm m$)

Група дослідження	Структури плаценти			
	Ендотеліоцити кровоносних судин хоріальної пластинки плаценти	Фібриноїд хоріальної пластинки плаценти	Ендотеліоцити кровоносних судин базальної пластинки	Фібриноїд базальної пластинки
Спостереження фізіологічної вагітності	0,228±0,0025	0,124±0,0021	0,374±0,0022	0,142±0,0019

Із табличних даних помітно, що інтенсивність оптичної густини забарвлення ендотеліоцитів кровоносних судин та фібриноїду при фізіологічній вагітності в різних структурах плаценти помітно відрізняється. Так, кількісні показники фактору von Willebrand вищі в ендотеліоцитах, ніж у фібриноїді, що підтверджує висновки візуальної оцінки щодо інтенсивності забарвлення гістологічних зрізів, причому найінтенсивніше було забарвлення в базальній пластинці плаценти.

Активні форми кисню можуть пошкоджувати внутрішньоклітинні структури й відповідно бути індукторами та медіаторами апоптозу. Важливі функції внутрішньоклітинної регуляції чисельності клітин володіють протеїни Bcl-2 та Bax.

При імуногістохімічному дослідженні протиапоптотичного протеїну Bcl-2 з первинними антитілами до нього та візуалізацією первинних антитіл полімерною системою (DAKO) з використанням діамінобензидину, який цікаво було б вивчити також в аспекті вільнорадикальних процесів завдяки антиоксидантним властивостям, експресію його виявлено тільки у синцитіотрофобласті, цитотрофобласті хоріальних ворсин та матково-плацентарної ділянки. В цитотрофобласті матково-плацентарної ділянки дослідження забарвлення експресії протеїну Bcl-2 виявлено тільки в клітинах пула цитотрофобласта, який щойно залишив якірну хоріальну ворсинку і занурився в матково-плацентарну ділянку. Менше та в окремих клітинах виявлено в пулі цитотрофобласта, який інтенсивно проліферує з компактным розташуванням клітин. Експресія протиапоптотичного антигену Bcl-2 спостерігалась і в лімфоїдних клітинах матково-плацентарної ділянки. Проте у структурах, які входили в об'єкт наших досліджень: ендотеліоцитах, фібриноїді базальної та хоріальної пластинок плаценти, децидуоцитах, специфічного імуногістохімічного забарвлення не виявлено.

При імуногістохімічному дослідженні проапоптотичного білка Bax, найбільш чітке Bax-позитивне забарвлення зазначалося у децидуоцитах базальної пластинки плаценти та синцитіотрофобласті хоріальних ворсинок.

При цьому забарвлення мало комбінований, дифузно-гранулярний характер (рис. 3.7). Спроби кількісного дослідження в інших структурах хоріальної пластинки плаценти не увінчались успіхом, адже в досліджуваних структурах експресія протеїну Вах була надто слабкою або ж і повністю не реєструвалася, що унеможливило денситометричне обчислення.

Кількісні показники оптичної густини забарвлення, отримані за допомогою комп'ютерної мікроденситометрії, при фізіологічній вагітності у синцитіотрофобласті хоріальних ворсинок плаценти у середньому становили $-0,123 \pm 0,0014$, а у децидуоцитах базальної пластинки плаценти $0,121 \pm 0,0012$ відн. од.

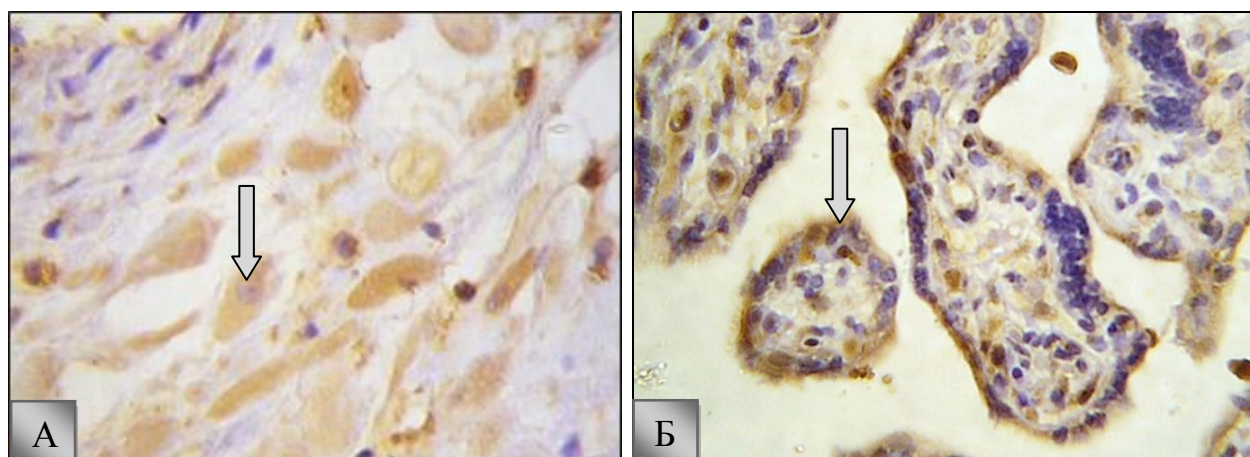


Рисунок 3.7 – Експресія проапоптотичного протеїну Вах при фізіологічній вагітності. А – децидуоцити базальної пластинки плаценти (↑); Б – синцитіотрофобласт хоріальних ворсинок (↑). Імуногістохімічна методика. Збільшення: Об.40^x.Ок.10^x

Отже, морфологічний стан плацент даної групи дослідження відповідав загальновизнаному уявленню про фізіологічну норму й міг бути використаний для порівняння при вивченні морфологічних особливостей хоріоамніоніту, базального децидуїту та змін у плаценті при поєднанні зі ЗДАВ.

3.2 Морфологічна характеристика плацент від породіль із залізодефіцитною анемією без ознак хоріоамніоніту та базального децидуїту

У групі жінок зі ЗДАВ (рис. 3.8) макроскопічно оболонки плацент не мали особливих відмінностей від плацент фізіологічної вагітності. Проте траплялися випадки неправильної форми, зумовлені ексцентричним (7 спостережень – 33 %) та боковим (1 спостереження – 5 %) прикріпленням пупкового канатика до плаценти.

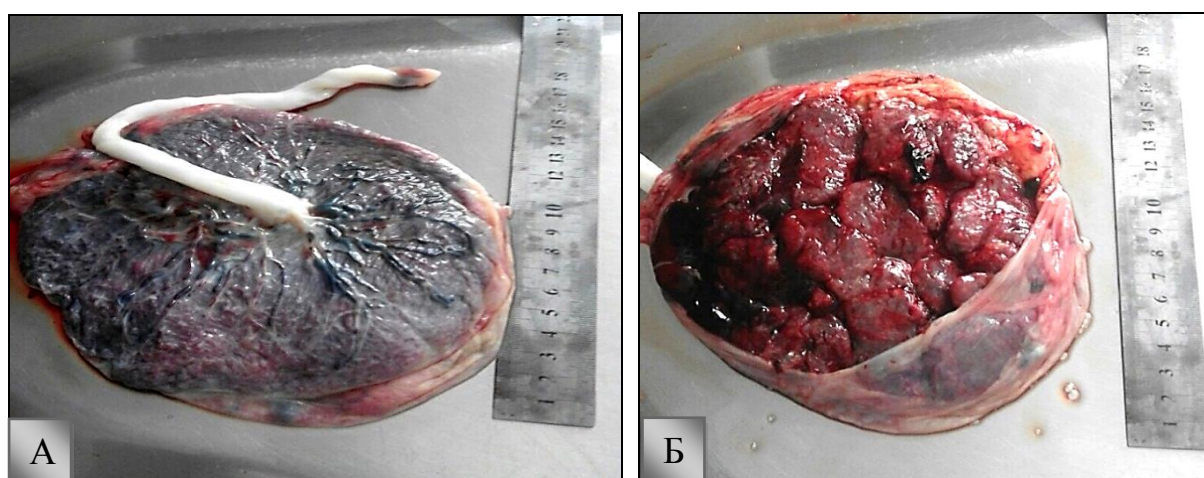


Рисунок 3.8 – Спостереження залізодефіцитної анемії вагітних. А – плодова поверхня плаценти. Б – материнська частина плаценти

Аналізуючи органометричні показники даної групи стало відомо, що в 60 % випадків діагностовано гіпотрофію плаценти: маса і загальна площа плаценти при ЗДАВ знижені порівняно з фізіологічною вагітністю до 9 % та 10 % відповідно та становили у середньому $409,14 \pm 6,02$ г ($p < 0,001$) і $231,09 \pm 3,54$ см² ($p < 0,001$) відповідно. Проте товщина її залишалася в межах контрольних показників та становила $2,46 \pm 0,05$ см ($p > 0,05$), а об'єм органа – $572,23 \pm 16,83$ см³, що у середньому нижче за показники фізіологічної вагітності ($p = 0,01$) на 16 %.

Середні параметри маси новонароджених дітей даної групи спостережень дорівнювали $3120,0 \pm 47$ г, що менше від фізіологічної вагітності на 8,5 %, зі статистично достовірною розбіжністю у середніх значеннях за критерієм Стюдента ($p < 0,001$), а оцінка за шкалою Апгар – $7,85 \pm 0,18$, при показниках норми $8,32 \pm 0,15$, що менше на 5,6 % ($p = 0,001$).

Проведений аналіз гістологічних досліджень основних структурних елементів плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних, при забарвленні препаратів гематоксиліном та еозином, допоміг підтвердити характерні для ЗДАВ зміни цього органа, які незалежно описані авторами наукових публікацій [41, 46].

Насамперед виявлено пертурбації, які стосувалися патологічної незрілості ворсин хоріона, що проявлялося осередковим дефіцитом повноцінних термінальних ворсин поруч із переважанням проміжних і патологічно незрілих, склерозованих та фіброзно-змінених. Також знайдено значну кількість функціонуючих синцитіальних бруньок. Шар синцитіотрофобласту подекуди зруйнований, з явищами інфарктів та загнивання. У ділянках строми ворсин переважна кількість мікросудин зі склерозованою стінкою і облітерацією їх просвіту. Виражене звуження міжворсинчастого простору, через масивні відкладення фібриноїду та солей вапна. Візуалізувалися вогнищеві осередки, які свідчали про гострі розлади кровообігу. В базальній пластинці плаценти звертали на себе увагу децидуоцити та цитотрофобластичні клітини (клітини Лангханса) в стані вакуольної дистрофії.

Для вивчення колагенових волокон хоріальної та базальної пластинок плаценти при ЗДАВ була використана гістохімічна методика з хромотропом-водним блакитним за Н.З. Слінченко з мікроденситометричним вимірюванням питомого об'єму та оптичної густини забарвлення колагенових волокон. Результати дослідження наведені у таблиці 3.6.

Таблиця 3.6 – Кількісні показники питомого об'єму та оптичної густини гістохімічного забарвлення колагенових волокон плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних ($M \pm m$).

Структура плаценти		Колагенові волокна	
		Питомий об'єм (%)	Оптична густина (од. опт. густ.)
Хоріальна пластинка плаценти	Мезодермальна основа амніона	$28 \pm 0,6$ $p > 0,05$	$0,314 \pm 0,0024$ $p > 0,05$
	Спонгіозний шар хоріальної пластинки	$4 \pm 0,3$ $p > 0,05$	$0,310 \pm 0,0025$ $p > 0,05$
	Мезодермальна основа хоріальної пластинки	$32 \pm 0,5$ $p < 0,001$	$0,321 \pm 0,0031$ $p = 0,02$
Базальна пластинка плаценти		$12 \pm 0,4$ $p < 0,001$	$0,198 \pm 0,0022$ $p < 0,001$

Примітка. p – вірогідність різниці двох середніх між групою порівняння та досліджуваною групою.

Як свідчать кількісні показники, наведені в таблиці (табл. 3.6), при вивченні стромального компоненту хоріальної та базальної пластинок плаценти у середньому відсоток питомого об'єму колагенових волокон та оптична густина гістохімічного забарвлення були статистично вищими тільки у мезодермальній її основі. На рисунках (рис. 3.9) продемонстровано, як забарвлюються структури плаценти.

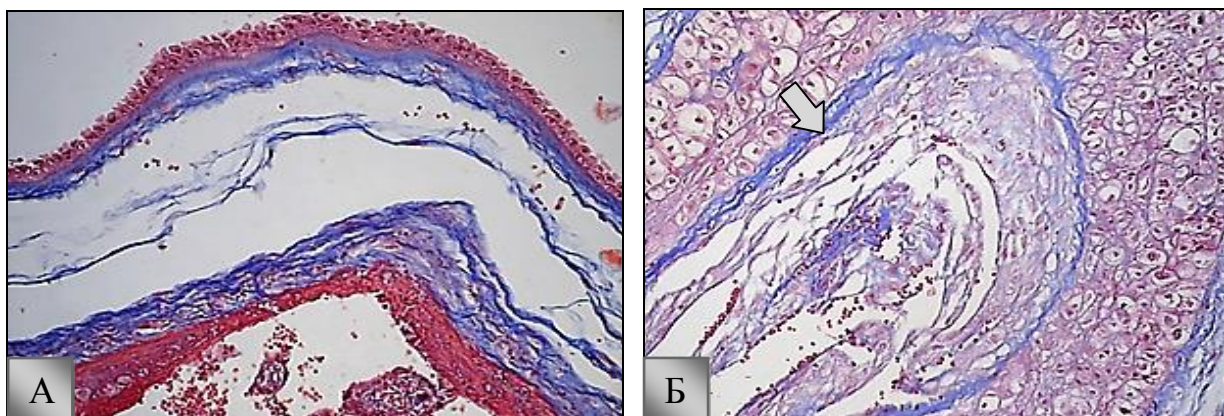


Рисунок 3.9 – Інтенсивність забарвлення колагенових волокон плаценти при ЗДАВ. А – хоріальна пластинка плаценти. Б – базальна пластинка плаценти. Забарвлення хромотропом-водним блакитним за Н.З. Слінченко. Збільшення: Об.40^x.Ок.10^x

Вивчення процесів ОМБ інформативне, оскільки гіпоксія при ЗДАВ викликає посилення процесів вільнорадикального окиснення біосубстратів. Середні дані щодо вивчення процесів ОМБ з визначенням коефіцієнта R/V, який відображає співвідношення між аміно- та карбоксильними групами білків («кислі» та основні» білки) в окремих структурах базальної та хоріальної пластинок плаценти наведені у таблиці (табл. 3.7).

Таблиця 3.7 – Коефіцієнт R/V в окремих структурах базальної та хоріальної пластинок плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних (M± m)

Група Дослідження	Структура плаценти				
	Ендотеліоцити кровоносних судин хоріальної пластинки	Фібриноід хоріальної пластинки	Ендотеліоцити кровоносних судин базальної пластинки	базальної пластинки	Децидуоцити базальної пластинки
Залізодефіцитна анемія вагітних (n=20)	0,98±0,023 p<0,001	1,02±0,018 p=0,006	1,12±0,009 p=0,003	1,32±0,012 p=0,022	1,06±0,009 p>0,05

Примітка. p – вірогідність різниці двох середніх між групою порівняння та досліджуваною групою.

Із даних таблиці зрозуміло, що тільки у децидуоцитах базальної пластинки плаценти при ЗДАВ не зареєстровано вірогідного збільшення коефіцієнта R/B порівняно з фізіологічною вагітністю. Проте в інших структурах плаценти мало місце зростання середніх величин, причому в базальній пластинці вони вищі за кількісні показники хоріальної пластики плаценти.

На рисунках помітно, як забарвлюються структури базальної та хоріальної пластинок плаценти (рис. 3.10).

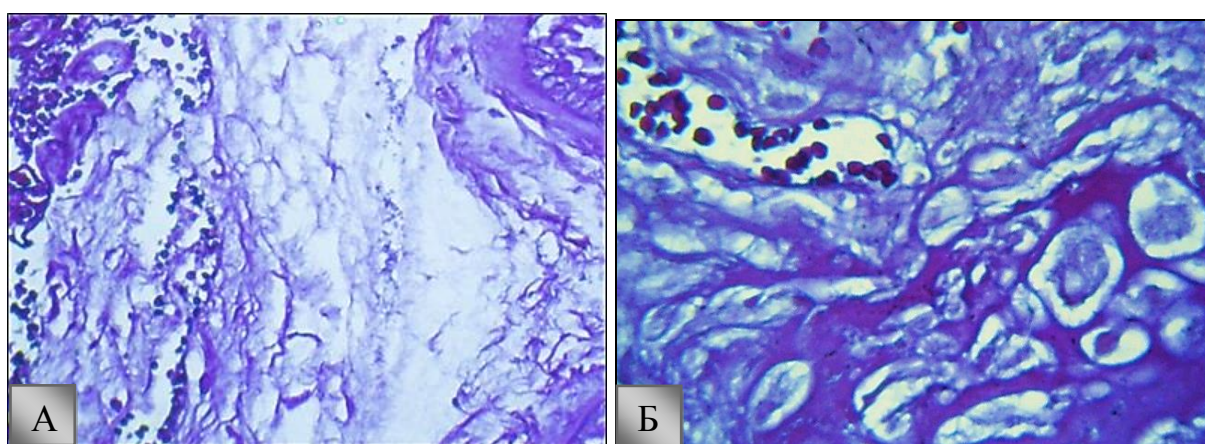


Рисунок 3.10 – Забарвлення на аміно- та карбоксильні групи білків у структурах плаценти при ЗДАВ. А – Ендотеліоцити та фібриноїд хоріальної пластинки; Б – децидуоцити та фібриноїд базальної пластинки. Гістохімічна методика з бромфеноловим синім за Mikel Calvo. Збільшення: Об.40^x.Ок.10^x

Навіть без кількісного дослідження помітно, що найінтенсивніше в порівняно зі спостереженнями фізіологічної вагітності забарвлюються ендотеліоцит та ще більше фібриноїд, що підтверджується показниками коефіцієнта R/B.

Для встановлення причинно-наслідкових зв'язків щодо підвищення у певних досліджуваних структурах плаценти процесів ОМБ, проведено хемілюмінесцентне дослідження інтенсивності яскравості нітропероксидів, кількісні показники яких подані в таблиці (табл. 3.8).

Таблиця 3.8 – Кількісні показники хемілюмінесцентного світіння нітропероксидів у структурах базальної та хоріальної пластинки плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних ($M \pm m$)

Група дослідження	Структура плаценти		
	Ендотеліоцити кровоносних судин хоріальної пластинки	Ендотеліоцити кровоносних судин базальної пластинки	Децидуальні клітини базальної пластинки
Залізодефіцитна анемія вагітних (n=20)	$35 \pm 4,7$ p=0,01	$40 \pm 4,5$ p>0,05	$38 \pm 4,2$ p>0,05

Примітка. p – вірогідність різниці двох середніх між групою порівняння та досліджуваною групою.

Отримані дані демонструють різке зростання кількісних показників хемілюмінесцентного світіння нітропероксидів тільки в ендотеліоцитах хоріальної пластинки плаценти.

Далі, за допомогою мікрофотографій можна оцінити інтенсивність світіння нітропероксидів, яка найчіткіше була виражена в ендотеліоцитах кровоносних судин хоріальної пластинки плаценти (рис. 3.11).

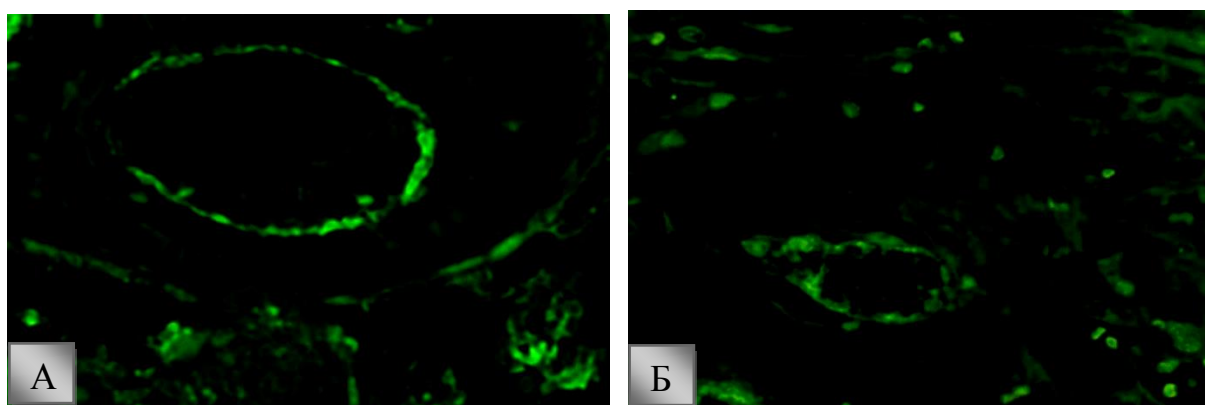


Рисунок 3.11 – Інтенсивність світіння нітропероксидів при ЗДАВ.

А – ендотеліоцити кровоносної судини хоріальної пластинки плаценти.

Б – ендотеліоцити кровоносної судини та децидуоцити базальної пластинки плаценти. Хемілюмінесцентне дослідження з люмінолом. Збільшення:

$06.40^x \cdot \text{Ок.} 10^x$

Посилене утворення вільних радикалів під впливом гіпоксії, зумовленої залізодефіцитною анемією вагітних із закономірним зростанням процесів окиснювальної модифікації білків, повинно супроводжуватись підвищенням вільних аміногруп білків, про що і свідчать табличні дані (табл. 3.9).

Таблиця 3.9 – Визначення вільних аміногруп білків у структурах базальної та хоріальної пластинок плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних ($M \pm m$)

Група дослідження	Структура плаценти				
	Ендотеліоцити кровоносних судин хоріальної пластинки	Фібриноід хоріальної пластинки	Ендотеліоцити кровоносних судин базальної пластинки	Фібриноід базальної пластинки	Децидуальні клітини базальної пластинки
Залізодефіцитна анемія вагітних (n=20)	0,168±0,0018 p>0,05	0,312±0,0026 p<0,001	0,162±0,0016 p>0,05	0,310±0,0024 p<0,001	0,169±0,0019 p>0,05

Примітка. p – вірогідність різниці двох середніх між групою порівняння та досліджуваною групою.

Так, згідно з кількісними показниками стехеометричного дослідження за допомогою нінгідриново-шифововської реакції на вільні аміногрупи білків за методом А. Yasuma та Т. Ichikava в даній групі дослідження оптична густина гістохімічного забарвлення в ендотеліоцитах хоріальної пластинки плаценти мали тенденцію до зростання, проте без статистично достовірної розбіжності. Зауважимо, що в даних структурах базальної пластинки відн. од. опт. густ. на дві одиниці були навіть нижчі за показники плацент фізіологічної вагітності. Не зростали процеси обмеженого протеолізу при ЗДАВ і в децидуоцитах базальної пластинки плаценти. Проте у фіброїді як

хоріальної, так і базальної пластинок, показники обмеженого протеолізу приблизно однакові та з високою статистичною розбіжністю за критерієм Стюдента, вищі від показників фізіологічної вагітності. Це підтверджує те, що фібриноїд є структурою, яка найінтенсивніше здатна відображати процеси за участю вільних радикалів, які виникли при ЗДАВ.

Далі на рисунку (рис. 3.12) наводиться приклад забарвлення структур хоріальної та базальної пластинок плаценти даної групи спостереження при застосуванні вказаної методики.

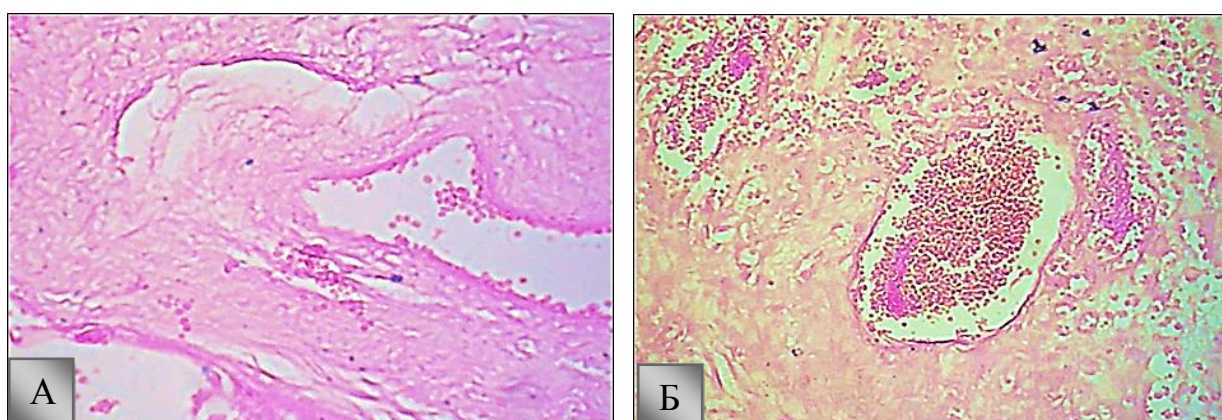


Рисунок 3.12 – Інтенсивність гістохімічного забарвлення на вільні NH_2 групи білків у структурах плаценти при ЗДАВ. А – хоріальна пластинка. Б – базальна пластинка плаценти. Нінгідриново-шиффовська реакція за методом А. Yasuma та Т. Ichikawa. Збільшення: Об.200^x.Ок.10^x

Навіть без денситометрії помітне більше виражене гістохімічне забарвлення у фібриноїді хоріальної та базальної пластинок порівняно з гістохімічними зображеннями плацент фізіологічної вагітності, що підтверджується кількісними показниками оптичної густини забарвлення.

Стратегічне розташуванням ендотелію зумовлює те, що він першим буде реагувати на більшість патогенних впливів. У цьому аспекті вважаємо за доцільне оцінити експресію фактору von Willebrand, який є маркером ендотеліальної дисфункції та наділений рядом особливостей, що дасть змогу

об'єктивно оцінити зміни в ендотелію кровоносних судин, викликані підвищеними при ЗДАВ вільнорадикальними процесами.

Результати імуногістохімічної методики із застосуванням первинних антитіл проти фактору von Willebrand при залізодефіцитній анемії вагітних наведені у таблиці (табл. 3.10).

Таблиця 3.10 – Показники оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на фактор von Willebrand у структурах плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних ($M \pm m$)

Група дослідження	Структури плаценти			
	Ендотеліоцити хоріальної пластинки плаценти	Фібриноід хоріальної пластинки плаценти	Ендотеліоцити кровоносних судин базальної пластинки	Фібриноід базальної пластинки
Залізодефіцитна анемія вагітних (n=20)	0,322 $\pm$ 0,0021 p<0,001	0,149 $\pm$ 0,0020 p<0,001	0,385 $\pm$ 0,0028 p=0,003	0,168 $\pm$ 0,0022 p<0,001

Примітка. p – достовірність різниці двох середніх між групою порівняння та досліджуваною групою.

Кількісні показники показали, що ЗДАВ спричиняє в усіх дослідженнях підвищення оптичної густини забарвлення на фактор von Willebrand порівняно з фізіологічною вагітністю, з максимальними параметрами в ендотеліоцитах кровоносних судин базальної та дещо менше – хоріальної пластинки плаценти.

Візуальну оцінку забарвленості ендотеліоцитів кровоносних судин та фібриноїду хоріальної, а також базальної пластинок плаценти можна отримати за допомогою рисунків (рис. 3.13).

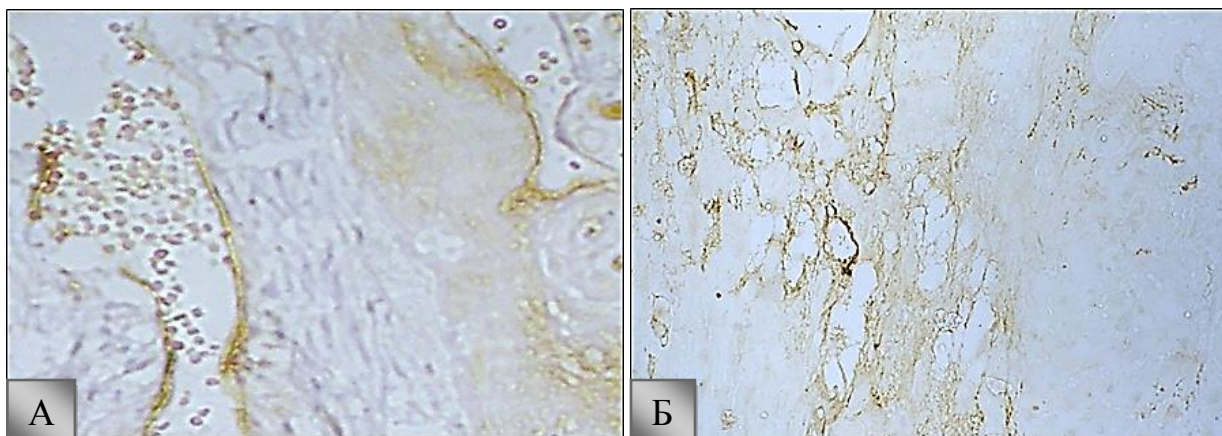


Рисунок 3.13 – Експресія фактору von Willebrand у фібриноїді та ендотеліоцитах кровоносних судин хоріальної (А) та базальної (Б) пластинок плаценти. Імуногістохімічна методика. Збільшення: Об.40^x.Ок.10^x

Недостатній транспорт кисню до тканин плаценти, зокрема на тлі ЗДАВ, швидко виснажує енергетичні системи клітин та запускає механізм її загибелі. Крім цього, типовими індукторами апоптозу є активні кисневі метаболіти, кількість яких інтенсивно збільшується при гіпоксичних станах, які можуть спричинити невибіркове руйнування біологічних молекул, пошкоджувати функцію та приводити до клітинну смерть. Отже, вивчення апоптотичних процесів у клітинах плаценти, інформативне в аспекті повного розуміння вільнорадикальних процесів при ЗДАВ. А визначення процесу апоптозу, саме в децидуальних клітинах базальної пластики, важливе тому, що вони входять до переліку структур, підвищена загибель яких є ризиком передчасного відшарування плаценти з усіма наступними негативними наслідками для перебігу вагітності [218].

Денситометричні показники ступеня специфічного забарвлення на протеїн Вах (рис. 3.14) у синцитіотрофобласті хоріальних ворсинок плаценти у плацент від породіль із залізодефіцитною анемією становили $204 \pm 0,0014$ відн. од., а у децидуоцитах – $0,132 \pm 0,0014$. При цьому t-критерій Стьюдента

у цих структурах $<0,001$ порівняно з фізіологічною вагітністю, що свідчить про високу ймовірність зростання процесів апоптозу при ЗДАВ.

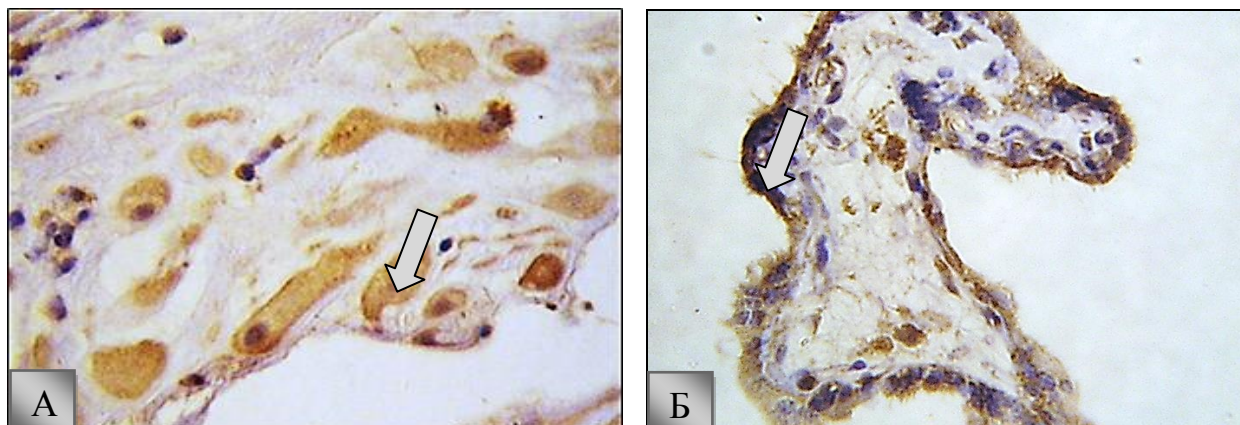


Рисунок 3.14 – Експресія проапоптотичного протеїну Вах при ЗДАВ.

А – децидуцити базальної пластинки плаценти (↑). Б – синцитіотрофобласт хоріальних ворсинок (↑). Імуногістохімічна методика. Збільшення:

Об.40^x.Ок.10^x

Резюме

Отже, підсумовуючи результати дослідження, викладені в даному підрозділі, можна дійти висновку, що ЗДАВ впливає на морфогенез плаценти та виявляється помірною гіпотрофією за рахунок зниження параметрів маси та площі материнської поверхні.

При визначенні питомого об'єму та оптичної густини гістохімічного забарвлення колагенових волокон, показники змінювалися до більших значень тільки у мезодермальній основі хоріальної пластинки та тільки в базальній пластинці плаценти.

Провівши оцінку коефіцієнта R/B, можна зробити висновок, що ЗДАВ сприяє процесам ОМБ у ендотеліюцитах та фібриноїді хоріальної та базальної пластинок плаценти, з тенденцією до зростання кількісних показників інтенсивності яскравості нітропероксидів в ендотеліюцитах вказаних локалізацій. При цьому оптична густина забарвлення на вільні аміногрупи

білків характеризувалася найбільшими даними у фібриноїді як хоріальної, так і базальної пластинок плаценти.

При постановці імуногістохімічної методики на фактор von Willebrand, позитивне забарвлення має місце тільки в ендотеліоцитах та фібриноїді досліджуваних структур, де ЗДАВ спричиняє в усіх дослідженнях підвищення оптичної густини забарвлення на фактор von Willebrand порівняно з фізіологічною вагітністю, з максимальними показниками в ендотеліоцитах базальної та, дещо менше, хоріальної пластинки плаценти.

Експресія протеїну Вах, при імуногістохімічному методі дослідження, найбільше була виражена у децидуоцитах базальної пластинки плаценти, яка піддавалася кількісному дослідженню. При цьому отримані результати демонстрували посилення процесів апоптозу в них при ЗДАВ.

Результати власних досліджень розділу 3 викладені в статтях [55, 56, 57, 58, 60, 61, 69, 171] та апробовані на наукових форумах [51, 52, 53, 54, 59, 62, 64, 65, 66, 67, 68]. Додатково відображені в патенті України на корисну модель [30] та в галузевому нововведенні [31].

РОЗДІЛ 4

МОРФОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ПЛАЦЕНТ З ГОСТРИМ ХОРІОАМНІОНОМ ЗА УМОВ ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНОЇ АНЕМІЇ ВАГІТНИХ

У даному розділі нами подана морфологічна характеристика гострого хоріоамніоніту при коморбідній ЗДАВ та без неї із використанням звичайних рутинних методик, морфометричного, хемілюмінесцентного (вивчення інтенсивності хемілюмінесцентного світіння нітропероксидів), гістохімічного (виявлення колагенових волокон, вивчення процесів окиснювальної модифікації білків та обмеженого протеолізу), імуногістохімічного (виявлення фактору von Willebrand, процесів апоптозу) методів дослідження для визначення можливого впливу ЗДАВ на перебіг запалення плаценти.

Було досліджено 23 спостереження гострого хоріоамніоніту при вагітності без анемії та 21 – гострого хоріоамніоніту на тлі залізодефіцитної анемії вагітних.

4.1 Гістологічне й органометричне дослідження плацент

Під час макроскопічного дослідження встановлено, що в даних групах дослідження форма плацент була овальною або округлою. У спостереженнях із гострим хоріоамніоном плацента та її оболонки в половині випадків виглядали мало зміненими, лише у 8 (34,8 %) плацентах естраплацентарні та плацентарні оболонки були сірувато-білого кольору, каламутні, а в 5 (21,7 %) – набряклі та жовті із зеленуватим відтінком з помірно зернистою поверхнею (рис. 4.1).

Звертали увагу дрібні вогнищеві ущільнення, які локалізувалися в крайовій зоні плодової частини плаценти, амніон при цьому був позбавлений блиску, крихкий і шорсткуватий, у деяких спостереженнях послід із

вираженим неприємним гнилуватим запахом. На розтині тканини плаценти повнокровні, що надавало їм буро-червоного забарвлення.

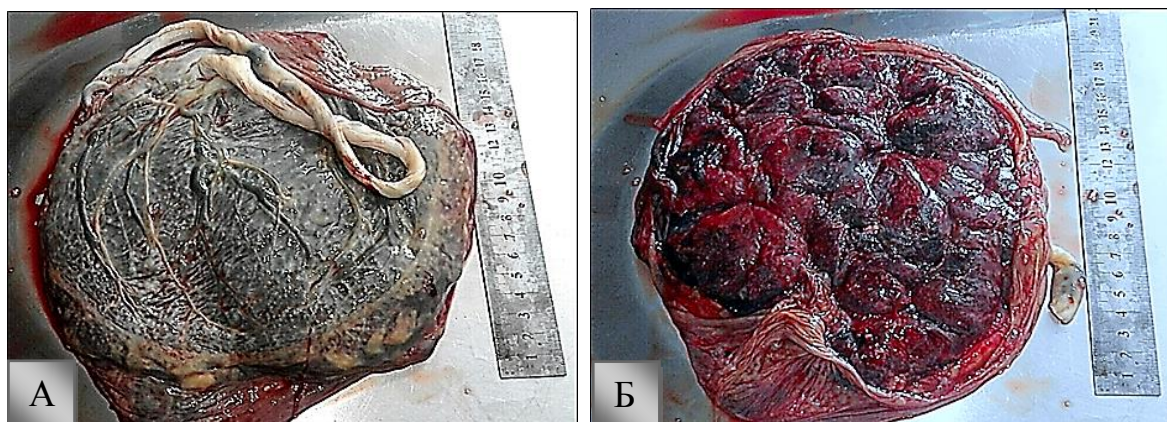


Рисунок 4.1 – Макроскопічний вигляд доношеної плаценти з явищами гострого хоріоамніоніту. А – плодова поверхня плаценти. Б – материнська поверхня плаценти

У плацентах з запаленням у поєднанні зі ЗДАВ зовнішній вигляд у більшості випадків демонстрував зміни характерні для запального стану плаценти, та не мав візуальних відмінностей від плацент із ХА без анемії, за винятком більше вираженого повнокрів'я тканин. Прикріплення пупкового канатика в плацентах із гострим хоріоамніонітом у 19 (83 %) спостереженнях було центральне, лише у 4 (17 %) – ексцентричне. У групі плацент у поєднанні зі ЗДАВ ексцентричне прикріплення пуповини (6 спостережень – 28 %) більше виражене порівняно з фізіологічною вагітністю та спостереженнями гострого хоріоамніоніту без ЗДАВ.

Маса плацент при гострому хоріоамніоніті у середньому становила $482 \pm 4,68$ г, при показниках фізіологічної вагітності $454,5 \pm 5,58$ г ($p < 0,001$), що більше на 6 %. Очевидне зростання показників, головню, можна пояснити повнокрів'ям венозних судин ворсин. Товщина плаценти у середньому дорівнювала $2,99 \pm 0,12$ см, що на 14 % більше за показники норми ($p = 0,004$). Проте показники площі материнської поверхні не мали статистичної розбіжності з фізіологічною вагітністю і сягала $268 \pm 2,53$ см² ($p > 0,05$). Об'єм

органа у середньому більший на 15 % за показники норми та становив $805,35 \pm 35,91 \text{ см}^3$ ($p=0,03$).

Маса плацент із гострим ХА при коморбідній ЗДАВ дорівнювала $451,95 \pm 3,23$ г, товщина – $2,6 \pm 0,09$ см, площа материнської поверхні – $261,05 \pm 2,57 \text{ см}^2$, об'єм – $682,4 \pm 27,75 \text{ см}^3$. При порівнянні зі спостереженнями гострого хоріоамніоніту без ЗДАВ показники маси ($p<0,001$), товщини ($p=0,01$) та об'єму ($p=0,009$) статистично були нижчі та наближені до показників плацент фізіологічної вагітності, що у відсотковому співвідношенні на 6 %, 13 % та 17 % відповідно. Середні дані площі материнської поверхні не мали статистично достовірної розбіжності ($p>0,05$) зі спостереженнями фізіологічної вагітності та хоріоамніонітом без ЗДАВ, проте були вищими за показники плацент при ЗДАВ без запалення.

Маси новонароджених та оцінка за шкалою Апгар у групі спостережень з гострим хоріоамніонітом у середньому були наближені до показників норми та становили – $3396,0 \pm 38$ г ($p>0,05$) та $8,13 \pm 0,11$. Проте спостерігали вплив коморбідної ЗДАВ при запаленні на зниження параметрів маси дитини на 8,7 % ($3116,0 \pm 29$ г, $p<0,001$), за відсутності статистично достовірної розбіжності при оцінці за шкалою Апгар – $7,9 \pm 0,21$ ($p>0,05$).

Для гістологічної оцінки запальної реакції використовували Амстердамські критерії [16] (Міжнародна класифікація пошкоджень плаценти (Амстердам, 2015), згідно з якими I стадія – це початкова реакція, яка локалізується в ділянці субхоріонального фібрину і внутрішній хоріодецидуальній мембрані (субхоріоніт, хоріоніт); II стадія – пошкодження сполучної тканини між хоріоном і амніоном (хоріоамніоніт); III стадія – некроз амніотичного епітелію (некротичний хоріоамніоніт). З метою діагностики вираженості запальної реакції визначали також ступінь гострого хоріоамніоніту [93]. Критеріями визначення I ступеня (помірної вираженості) були присутні поодинокі або дрібні скупчення ПЯЛ, які дифузно інфільтрують амніотичні оболонки, хоріальну пластинку та/чи наявний під хоріальною пластинкою плодовий фібриноід. Ступінь II (важкий) визначався

за наявності трьох і більше мікроабсцесів у хоріальній пластинці (не менше 10 – 20 ПЯЛ), а також між хоріальною та децидуальною пластинками в екстраплацентарних оболонках та/чи під хоріальною пластинкою плацентарного диска.

Мікроскопічне дослідження препаратів, забарвлених гематоксиліном та еозином, у групі плацент з гострим ХА показало в крайових зонах екстраплацентарних оболонок характерні інфільтрати з поліморфно-ядерних лейкоцитів в усіх спостереженнях. У 5 плацентах (22 %) були присутні поодинокі, інколи дрібні поліморфно-ядерні лейкоцити, які дифузно інфільтрували амніотичні оболонки хоріальної пластинки в субхоріальному шарі фібриноїду, що відповідало II стадії Амстердамських критеріїв та I ступеню вираженості. 18 плацент (78 %) були III стадії з гістологічними ознаками некротичного хоріоамніоніту, в яких спостерігався також набряк, дистрофічні зміни, некроз і злуцнення амніального епітелію, осередки розплавлення сполучної тканини, лейкоцити у фазі розпаду (каріорексис), потовщення амніотичної базальної мембрани. Ступінь вираженості цих змін помітно варіював між досліджуваними плацентами, що ймовірно, залежало від тривалості та тяжкості процесу (рис. 4.2) Так, 11 плацент (61 %) були з I ступенем та 7 (39 %) – II ступенем вираженості.

Плаценти з гострим хоріоамніонітом у поєднанні зі ЗДАВ мікроскопічно містили як ознаки запалення, так і патологічної незрілості ворсин, характерних для групи плацент зі ЗДАВ без запалення. Згідно Амстердамським критеріям 8 плацент (38 %) відповідали II стадії та I ступеню вираженості. 13 плацент (62 %) були III стадії, з них 9 (69 %) плацент з I ступенем вираженості та 4 (31 %) – з II ступенем. Окрім цього, візуалізувалась патологічна незрілість ворсин хоріона з дефіцитом повноцінних термінальних ворсин і переважанням проміжних та патологічно незрілих, виражені процеси склеру та фіброзну. У стромі ворсин, мікросудини з ознаками склерозу їх стінок. Вогнищеві осередки відкладання фібриноїду та солей вапна у міжворсинчастому просторі, а також ознаки гострого розладу кровообігу.

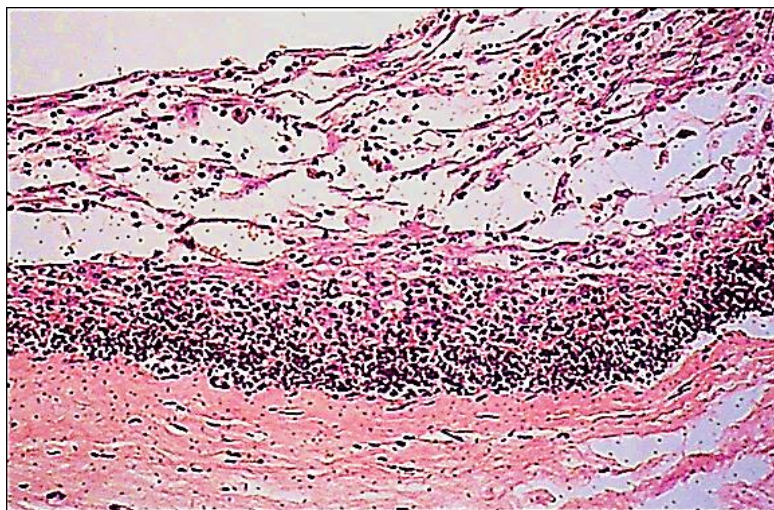


Рисунок 4.2 – Гострий плацентарний хоріоамніоніт з явищами клітинної запальної інфільтрації в хоріоні та амніоні. Забарвлення гематоксилином та еозином. Збільшення: Об.40^x.Ок.10^x

4.2 Гістохімічне та хемілюмінесцентне дослідження плацент

Кількісні показники питомого об'єму та оптичної густини гістохімічного забарвлення (рис. 4.3) наведені в таблиці (табл. 4.1).

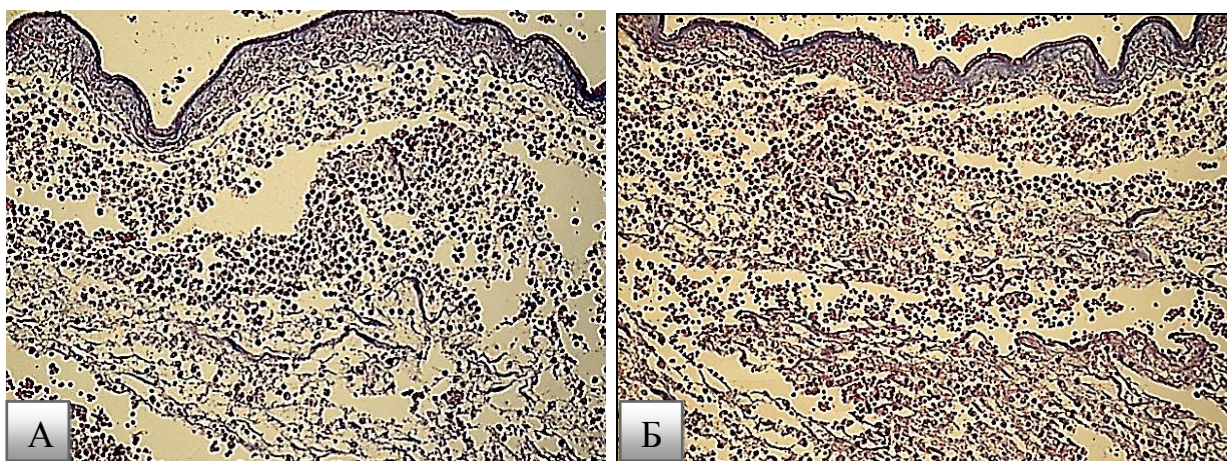


Рисунок 4.3 – Гістохімічне забарвлення колагенових волокон. А. Гострий некротичний хоріоамніоніт. Б. Гострий некротичний хоріоамніоніт на тлі залізодефіцитної анемії вагітних. Забарвлення «хромотропом 2В»-водним блакитним за Н.З. Слінченко. Збільшення: Об.40^x.Ок.10^x

Таблиця 4.1 – Кількісні показники питомого об'єму та оптичної густини гістохімічного забарвлення колагенових волокон хоріальної пластинки плаценти при гострому хоріоамніоніті на тлі залізодефіцитної анемії вагітних та без неї ($M \pm m$)

СтруктураСтруктура хоріальної пластинки плаценти	Спостереження гострого хоріоамніоніту при вагітності без анеміїбез анемії(n=23)		Спостереження гострого хоріоамніоніту при залізодефіцитній анемії вагітних (n=21)	
	Питомий об'єм (%)	Оптична густина (од. опт. густ.)	Питомий об'єм (%)	Оптична густина (од. опт. густ.)
Мезодермальна основа амніона	$26 \pm 0,6$ $p_1 > 0,05$ $p_2 = 0,01$	$0,298 \pm 0,0024$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	$27 \pm 0,6$ $p_3 > 0,05$ $p_4 > 0,05$	$0,299 \pm 0,0029$ $p_3 > 0,05$ $p_4 < 0,001$
Спонгіозний шар хоріальної пластинки	$2 \pm 0,3$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	$0,189 \pm 0,0019$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	$2 \pm 0,3$ $p_3 > 0,05$ $p_4 = 0,01$	$0,192 \pm 0,0021$ $p_3 > 0,05$ $p_4 < 0,001$
Мезодермальна основа хоріальної пластинки	$12 \pm 0,4$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	$0,196 \pm 0,0019$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	$14 \pm 0,4$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,001$	$0,198 \pm 0,0022$ $p_3 > 0,05$ $p_4 < 0,001$

Примітка: p_1 – вірогідність різниці двох середніх між фізіологічною вагітністю та досліджуваною групою; p_2 – вірогідність різниці двох середніх між групою плацент зі ЗДАВ та досліджуваною групою; p_3 – вірогідність різниці двох середніх між ХА та ХА у поєднанні зі ЗДАВ; p_4 – вірогідність різниці двох середніх між ХА у поєднанні зі ЗДАВ та ЗДАВ без запалення.

Так, при гострому хоріоамніоніті порівняно з фізіологічною вагітністю спостерігалось зменшення питомого об'єму в спонгіозному шарі ХП та ще з більшою інтенсивністю у мезодермальній основі ХП. Показники оптичної густини гістохімічного забарвлення колагенових волокон в усіх шарах хоріальної пластинки плаценти були статистично нижчими за показники норми. Це ж прослідковувалося і при порівнянні спостережень зі ЗДАВ.

При запаленні на тлі ЗДАВ отримали дані про незначні зростання показників тільки питомого об'єму у мезодермальній основі ХП відносно групи

плацент з запаленням без анемії. Проте порівняно зі ЗДАВ без запалення в усіх шарах оптична густина була статистично нижчою, а питомий об'єм в спонгіозному шарі та мезодермальній основі хоріальної пластинки плаценти.

Отримані показники ступеня ОМБ при гострому ХА на тлі ЗДАВ та без неї наведені в таблиці (табл. 4.2). На фотознімках (рис. 4.4 та 4.5) можна побачити інтенсивність забарвлення структур плацент при гістохімічній методиці на «кислі» та «основні» білки з бромфеноловим синім за Mikel Calvo.

Таблиця 4.2 – Коефіцієнт R/V в окремих структурах хоріальної пластинки плаценти при гострому хоріоамніоніті на тлі залізодефіцитної анемії вагітних та без неї ($M \pm m$)

Структури плаценти	Спостереження гострого хоріоамніоніту при вагітності без анемії (n=23)	Спостереження гострого хоріоамніоніту при залізодефіцитній анемії вагітних (n=21)
Ендотеліоцити кровоносних судин хоріальної пластинки плаценти	1,92±0,022 (n=23) $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	1,98±0,025 (n=21) $p_3 > 0,05$ $p_4 < 0,001$
Фібриноїд хоріальної пластинки плаценти	1,42±0,034 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	1,48±0,035 $p_3 > 0,05$ $p_4 < 0,001$

Примітка: p_1 – вірогідність різниці двох середніх між фізіологічною вагітністю та досліджуваною групою; p_2 – вірогідність різниці двох середніх між групою плацент зі ЗДАВ та досліджуваною групою; p_3 – вірогідність різниці двох середніх між ХА та ХА у поєднанні зі ЗДАВ; p_4 – вірогідність різниці двох середніх між ХА у поєднанні зі ЗДАВ та ЗДАВ без запалення.

Так, при гострому хоріоамніоніті зростали процеси ОМБ в ендотеліоцитах та фібриноїді хоріальної пластинки плаценти в порівнянні з фізіологічною вагітністю та ЗДАВ, про що свідчать середні дані коефіцієнта R/V. Проте побічна ЗДАВ при гострому хоріоамніоніті не призводила до

інтенсифікації процесів ОМБ, показники яких наближені до плацент з хоріоамніонітом без ЗДАВ, були статистично вищими за спостереження ЗДАВ без запалення.

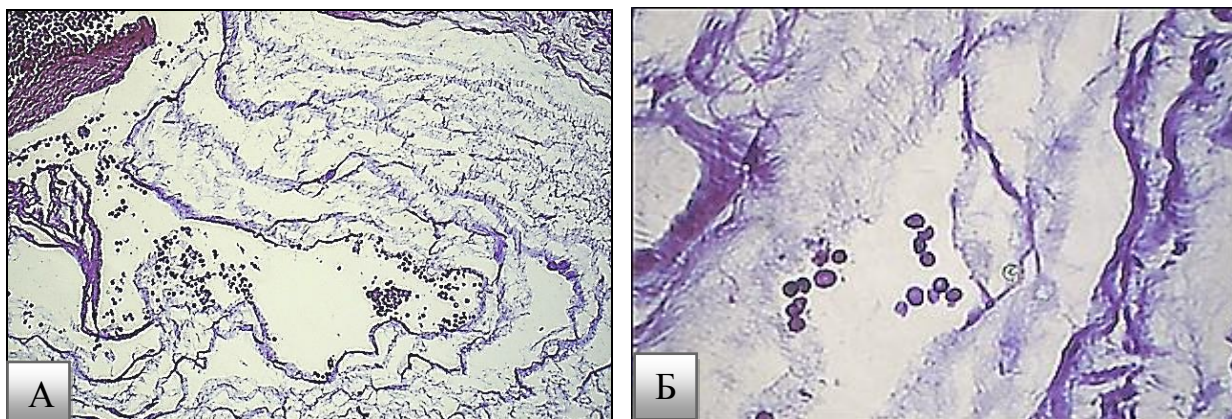


Рисунок 4.4 – Спостереження гострого плацентарного хоріоамніоніту. Переважання карбоксильних груп білків над аміногрупами в залежності від структур. А – фібриноїд хоріальної пластинки. Б – ендотеліоцити кровоносних судин хоріальної пластинки. Гістохімічна методика з бромфеноловим синім за Mikel Calvo. Збільшення: Об.40^x.Ок.10^x

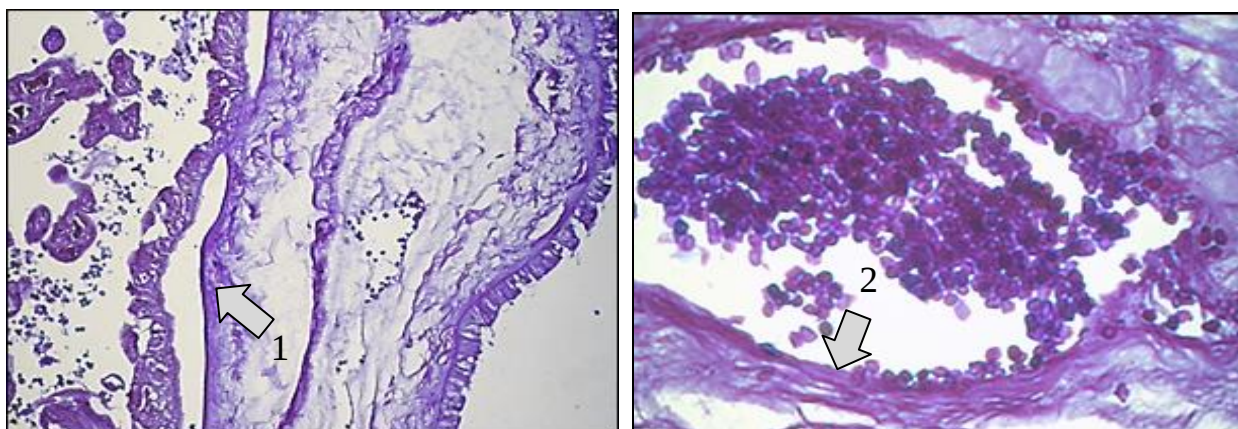


Рисунок 4.5 – Спостереження гострого плацентарного хоріоамніоніту на тлі ЗДАВ. Зміщення кольору забарвлення у червону частину спектру у фібриноїді (1) та ще більше в ендотеліоцитах кровоносних судин (2) хоріальної пластинки плаценти, що свідчить про переважання карбоксильних груп білків над аміногрупами. Гістохімічна методика з бромфеноловим синім за Mikel Calvo. Збільшення: Об.40^x.Ок.10^x

Певне обґрунтування процесів окиснювальної модифікації білків в ендотеліоцитах хоріальної пластинки при гострому ХА (рис. 4.6) демонстрували отримані хемілюмінесцентним методом дані про високий рівень нітропероксидів – $154 \pm 4,4$ ($p < 0,001$), при фізіологічній вагітності – $18 \pm 4,8$ та відсутність суттєвих коливань показників інтенсивності хемілюмінесценції при коморбідній ЗДАВ – $159 \pm 4,6$ ($p > 0,05$).

Описані зміни інтенсивності світіння нітропероксидів в ендотеліоцитах хоріальної пластинки у плацентах із гострим ХА при коморбідній ЗДАВ продемонстровано на мікрофотографії (рис. 4.6).

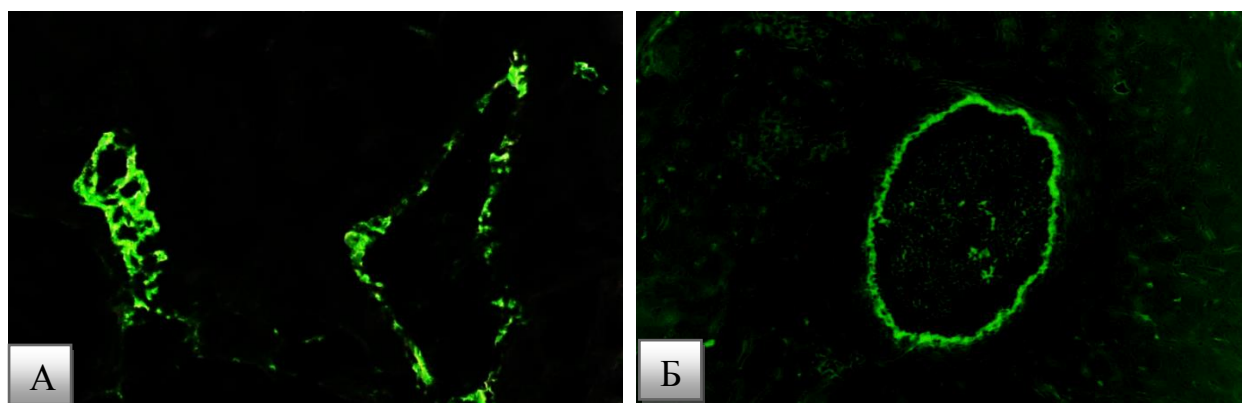


Рисунок 4.6 – Інтенсивність світіння нітропероксидів в ендотеліоцитах кровоносної судини хоріальної пластинки плаценти. А – спостереження гострого плацентарного хоріоамніоніту. Б – спостереження гострого плацентарного хоріоамніоніту на тлі ЗДАВ. Хемілюмінесцентний метод дослідження з люмінолом. Збільшення: Об.40^x.Ок.10^x

На мікрофотонрафіях помітно, що хемілюмінесцентне світіння після обробки люмінолом мало нерегулярний характер серед ендотеліоцитів, проте відмінностей у світінні, залежно від зони хоріальної пластинки плаценти, не виявлено. За межами ендотелію кровоносних судин ледь помітні осередки світіння, що може свідчити про здатність нітропероксидів долати порівняно більші дифузійні дистанції далеко за межею осередку їх виникнення.

Для підтвердження причинно-наслідкових зв'язків нами проведений кореляційний аналіз за методом Пірсона між спостереженнями запалення при

коморбідній залізодефіцитній анемії вагітних. Так, встановлені сильні кореляційні зв'язки між інтенсивністю світіння нітропероксидів та процесами ОМБ за коефіцієнтом R/B, де $r=0,781$ ($p<0,05$).

Наступний етап – кількісне визначення оптичної густини забарвлення на вільні аміногрупи білків за гістохімічним методом А. Yasuma та Т. Ichikava у поєднанні з мікроденситометрією. Результати дослідження наведені в таблиці (табл. 4.3).

Таблиця 4.3 – Визначення вільних аміногруп білків у структурах хоріальної пластинок плаценти при гострому хоріоамніоніті на тлі залізодефіцитної анемії вагітних та без неї ($M\pm m$)

Структури плаценти	Спостереження гострого хоріоамніоніту при вагітності без анемії (n=23)	Спостереження гострого хоріоамніоніту при залізодефіцитній анемії вагітних (n=21)
Ендотеліоцити кровоносних судин хоріальної пластинки плаценти	$0,215\pm0,0013$ $p_1<0,001$ $p_2<0,001$	$0,229\pm0,0012$ $p_3<0,001$ $p_4<0,001$
Фібриноїд хоріальної пластинки плаценти	$0,311\pm0,0024$ $p_1<0,001$ $p_2>0,05$	$0,315\pm0,0031$ $p_3>0,05$ $p_4>0,05$

Примітка: p_1 – вірогідність різниці двох середніх між фізіологічною вагітністю та досліджуваною групою; p_2 – вірогідність різниці двох середніх між групою плацент зі ЗДАВ та досліджуваною групою; p_3 – вірогідність різниці двох середніх між ХА та ХА у поєднанні зі ЗДАВ; p_4 – вірогідність різниці двох середніх між ХА у поєднанні зі ЗДАВ та ЗДАВ без запалення.

При вивченні процесів обмеженого протеолізу отримані показники демонстрували, що згідно із середніми величинами оптичної густини забарвлення, при гострому хоріоамніоніті у досліджуваних структурах інтенсивно зростають кількісні параметри відносно показників фізіологічної вагітності. Проте, порівнюючи числові дані з плацентами при ЗДАВ без

наявності запалення, обмежений протеоліз зростає тільки в ендотеліоцитах кровоносних судин ($p < 0,001$).

На даному етапі спостерігаємо певну закономірність, як і в дослідженнях процесів окиснювальної модифікації білків та визначенні інтенсивності світіння нітропероксидів, що запалення посліду при поєднанні зі ЗДАВ характеризується більшими середніми величинами обмеженого протеолізу, ніж без анемії також тільки у ендотеліоцитах кровоносних судин хоріальної пластинки плаценти. Мікрофотографії при застосуванні нінгідриново-шиффовської реакції підтверджують інтенсифікацію процесів обмеженого протеолізу в досліджуваних плацентах (рис. 4.7).

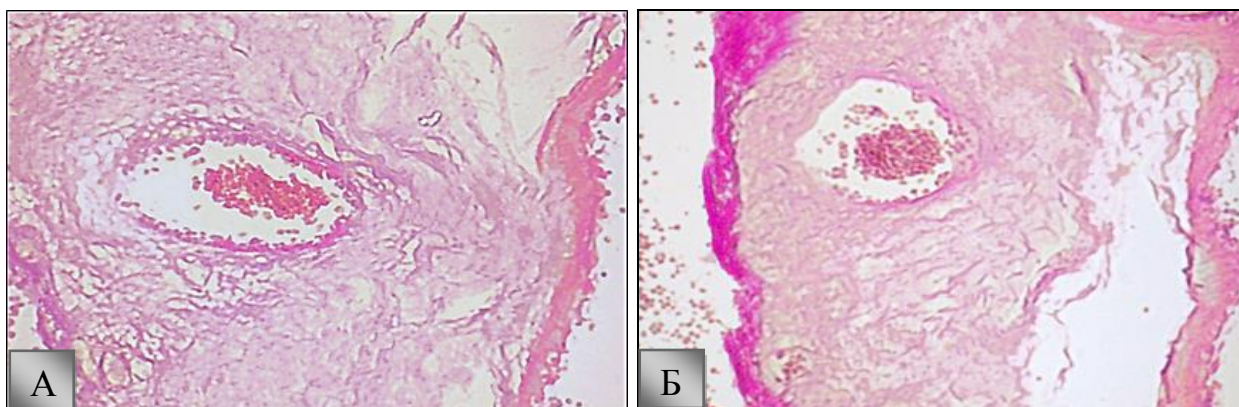


Рисунок 4.7 – Переважання об меженого протеолізу залежно від інтенсивності забарвлення структур. А – інтенсивність забарвлення на вільні NH_2 групи білків в ендотеліоцитах кровоносних судин та фібриноїді при гострому плацентарному хоріоамніоніті. Б – більш виражена інтенсивність забарвлення при гострому хоріоамніоніті на тлі ЗДАВ. Збільшення:

Об.20^x.Ок.10^x

Високі значення процесів обмеженого протеолізу в ендотеліоцитах кровоносних судин при гострому ХА з коморбідною ЗДАВ корелюють (за методом Пірсона) з інтенсивністю світіння нітропероксидів, $r=0,776$ ($p < 0,05$), а кореляційний зв'язок обмеженого протеолізу з процесами ОМБ зі статистичною розбіжністю ($p < 0,05$) дорівнює $r=0,786$.

4.3 Імуногістохімічне дослідження плацент

Кількісні показники оптичної густини імуногістохімічного забарвлення (рис. 4.8 та 4.9) на фактор von Willebrand наведені у таблиці (табл. 4.4).

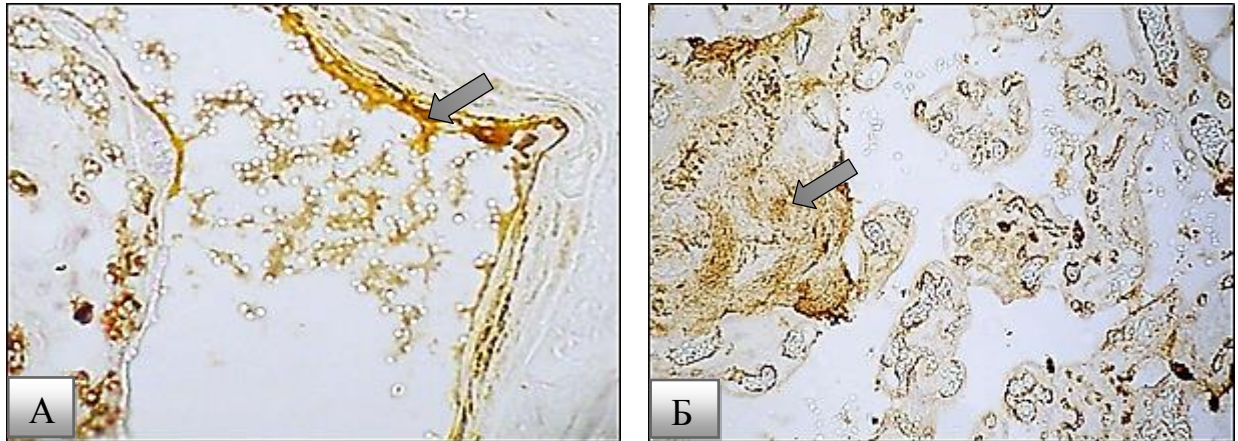


Рисунок 4.8 – Гострий плацентарний хоріоамніоніт. А – експресія фактору von Willebrand в ендотелію кровоносної судини (↑). Збільшення: Об.40^x.Ок.10^x. Б – експресія фактору von Willebrand у фібриноїді (↑). Збільшення: Об.40^x.Ок.10^x. Імуногістохімічна методика

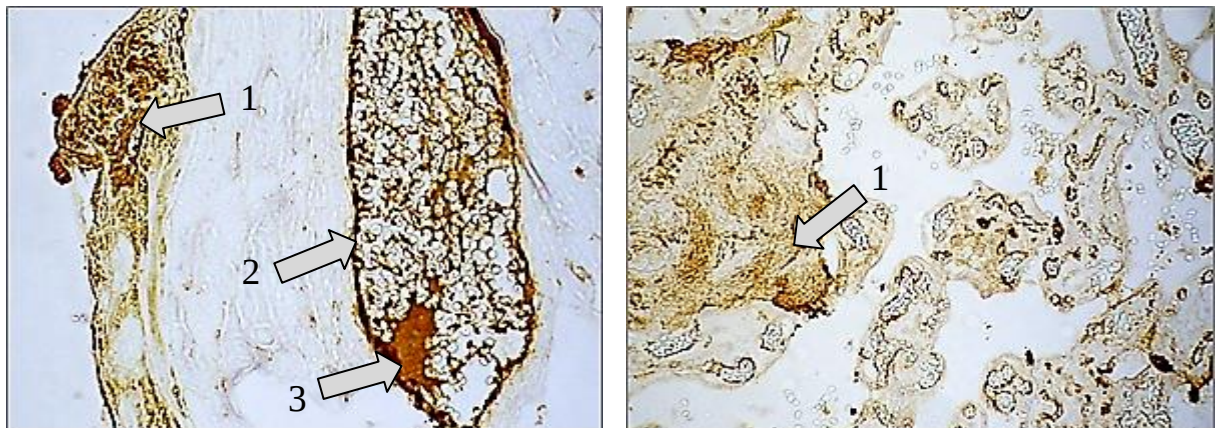


Рисунок 4.9 – Експресія фактору von Willebrand у структурах плаценти при гострому хоріоамніоніті на тлі ЗДАВ: 1 – фібриноїд хоріальної пластинки; 2 – ендотелій кровоносної судини; 3 – позитивно забарвлений тромб у просвіті судини. Імуногістохімічне дослідження. Збільшення: Об.40х.Ок.10х

Таблиця 4.4 – Показники оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на фактор von Willebrand у структурах хоріальної пластинки плаценти при гострому хоріоамніоніті на тлі залізодефіцитної анемії вагітних та без неї ($M \pm m$)

Структури плаценти	Спостереження гострого хоріоамніоніту при вагітності без анемії (n=23)	Спостереження гострого хоріоамніоніту при залізодефіцитній анемії вагітних (n=21)
Ендотеліоцити кровоносних судин хоріальної пластинки плаценти	$0,323 \pm 0,0024$ $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$	$0,386 \pm 0,0025$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,001$
Фібриноїд хоріальної пластинки плаценти	$0,126 \pm 0,0029$ $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,001$	$0,152 \pm 0,0028$ $p_3 < 0,001$ $p_4 > 0,05$

Примітка: p_1 – вірогідність різниці двох середніх між фізіологічною вагітністю та досліджуваною групою; p_2 – вірогідність різниці двох середніх між групою плацент зі ЗДАВ та досліджуваною групою; p_3 – вірогідність різниці двох середніх між ХА та ХА у поєднанні зі ЗДАВ; p_4 – вірогідність різниці двох середніх між ХА у поєднанні зі ЗДАВ та ЗДАВ без запалення

Як показано в таблиці, при гострому хоріоамніоніті тільки у ендотеліоцитах кровоносних судин хоріальної пластинки показники оптичної густини імуногістохімічного забарвлення мали статистично достовірну розбіжність у середніх значення порівняно із фізіологічною вагітністю. Проте у фібриноїді при запаленні, на відміну від ендотеліоцитів ($p > 0,05$), зростали показники оптичної густини забарвлення відносно плацент зі ЗДАВ без запалення, де $p < 0,001$. При ХА зі ЗДАВ в усіх досліджуваних структурах помітно різке зрушення кількісних параметрів до більших значень порівняно з ХА без ЗДАВ. Аналогічно, середні показники імуногістохімічного забарвлення статистично вищі за показники фізіологічної вагітності ($p < 0,001$), а порівняно зі ЗДАВ без запалення – тільки в ендотеліоцитах кровоносних судин.

Провівши визначення оптичної густини імуногістохімічного забарвлення (у відн. од. опт. густ.) на проапоптотичний білок Вах (рис. 4.10),

у синцитіотрофобласті хоріальних ворсинок плаценти при гострому хоріоамніоніті, було виявлено підвищення показників порівняно із плацентами від фізіологічної вагітності та становить $0,206 \pm 0,0013$ ($p < 0,001$). Проте порівняно з плацентами від породіль зі ЗДАВ без запалення, не спостерігається статистично вірогідних відмінностей, де мікроденситометричні дані дорівнювали $0,204 \pm 0,0012$, $p > 0,05$. У спостереженнях гострого хоріоамніоніту на тлі ЗДАВ середні кількісні показники становили $0,234 \pm 0,0012$ відн. од. опт. густ., що статистично вищі за спостереження плацент з запаленням без анемії ($p < 0,001$).

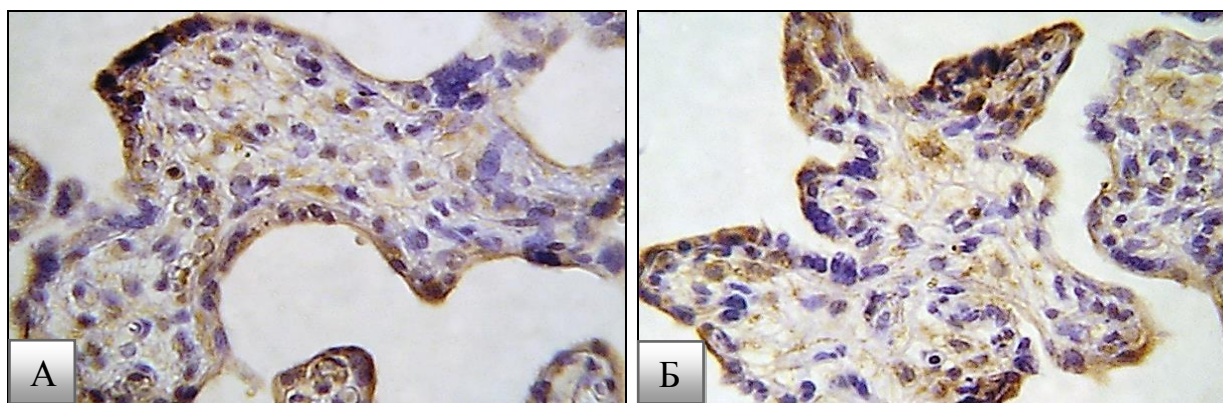


Рисунок 4.10 – Експресія протеїну Вах у синцитіотрофобласті хоріальних ворсин при гострому плацентарному хоріоамніоніті (А) та різко виражена при гострому хоріоамніоніті на тлі ЗДАВ (Б). Імуногістохімічна методика. Збільшення: Об.40^x.Ок.10^x

Резюме

Отже, за результатами дослідження, висвітленими в даному розділі, привертає увагу те, що гостре запалення хоріальної пластинки в цілому призводило до збільшення маси, товщини плаценти та середніх показників об'єму органа, хоча це скоріше, варто розцінювати лише як наслідок набряку та повнокрів'я тканин плаценти в реакцію на гострий запальний процес, ніж порушений морфогенез. Проте при запаленні з коморбідною залізодефіцитною анемією відбувається зниження органометричних параметрів плацент.

При гістохімічному дослідженні колагенових волокон хоріальної пластинки плаценти стало відомо, що при гострому ХА відбувалося виражене зменшення показників питомого об'єму колагенових волокон та оптичної густини гістохімічного забарвлення. При коморбідній ЗДАВ у мезодермальній основі хоріальної пластинки плаценти показники питомого об'єму статистично вищі за плаценти з гострим хоріоамніонітом без ЗДАВ.

При вивченні вільнорадикальних процесів у даних групах спостереження отримали дані про підвищення процесів ОМБ при гострому ХА (за показниками коефіцієнта R/B), збільшення концентрації нітропероксидів (за показниками хемілюмінесцентного світіння) та процесів обмеженого протеолізу (за даними оптичної густини гістохімічного забарвлення на вільні аміногрупи білків) в усіх досліджуваних структурах. Проте при коморбідній ЗДАВ зростали тільки процеси обмеженого протеолізу в ендотеліоцитах хоріальної пластинки плаценти.

Оцінюючи рівень фактору von Willebrand при гострому ХА найбільш виражена експресія його виявлена в ендотелію кровоносних судин хоріальної пластинки плаценти, що підтверджується статистичною вірогідністю між показниками фізіологічної вагітності. При цьому ЗДАВ при запальному процесі підвищувала вивільнення фактору von Willebrand як в ендотеліоцитах, так і у фібриноїді.

Зростання процесів апоптозу при гострому хоріоамніоніті демонструють високі мікроденситометричні показники оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на проапоптотичний протеїн Вах у синцитіотрофобласті хоріальних ворсинок плаценти, та ще більше виражені – при коморбідній ЗДАВ.

Результати власних досліджень розділу 3 викладені в статтях [55, 56, 57, 58, 60, 61, 69, 171] та апробовані на наукових форумах [51, 52, 53, 54, 59, 62, 64, 65, 66, 67, 68]. Додатково відображені в патенті України на корисну модель [30] та в галузевому нововведенні [31].

РОЗДІЛ 5

МОРФОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ПЛАЦЕНТ ІЗ ХРОНІЧНИМ ХОРІОАМНІОНОМ ЗА УМОВ ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНОЇ АНЕМІЇ ВАГІТНИХ

У даному розділі нами висвітлено результати проведених морфологічних, зокрема органометричних, гістологічних, гістохімічних та імуногістохімічних та хемілюмінесцентних досліджень хронічного хоріоамніоніту. Вивчено вплив коморбідної залізодефіцитної анемії вагітних на морфологію хронічного запалення хоріальної пластинки плаценти. З цією метою обрано 23 плаценти із хронічним хоріоамніоном та 21 – з запаленням плаценти при коморбідній ЗДАВ. Також здійснено порівняння отриманих результатів гострого хоріоамніоніту на тлі ЗДАВ з результатами спостережень запалення без наявної анемії.

5.1 Гістологічне й органометричне дослідження плацент

Форми плацент при хронічному хоріоамніоніті не мали відмінностей від плацент фізіологічної вагітності. Прикріплення пупкового канатика у 14 (70 %) спостереженнях центральне, а в 6 (30 %) – ексцентричне. У плацентах з хронічним хоріоамніоном у поєднанні зі ЗДАВ зустрічалися плаценти неправильної конфігурації, зумовлені боковим прикріпленням пуповини в 3 (15 %) та ексцентричним у 2 (10 %). Усі інші плаценти овальні або округлі, з центральним прикріпленням пупкового канатика. Плацентарні оболонки плацент з запаленням в 10 (43,5 %) випадках виглядали білястими, а в 3 (13 %) із зеленкуватим відтінком, потовщені та каламутні. У крайовій зоні плодової частини плаценти візуалізувалися дрібні вогнищеві ущільнення. На розтині тканини плаценти помірно повнокровні, дещо ущільнені. Зросла кількість випадків у яких виявляли петрифікати, які варіювали в діапазоні від 8 до 15 мм та осередкових, найбільше локалізованих в крайових зонах плаценти, білих і червоних інфарктів неправильної або конусоподібної форм розміром до 15 мм в діаметрі.

Середні органометричні дані при хронічному хоріоамніоніті демонструють підвищення показників за всіма параметрами досліджуваної групи, окрім площі материнської поверхні ($275,45 \pm 3,16 \text{ см}^2$, $p > 0,05$). Так, середня маса плацент становила $494,45 \pm 4,83 \text{ г}$, що на 8 % більша за масу плацент фізіологічної вагітності ($p < 0,001$), товщина – $3,03 \pm 0,12 \text{ см}$ ($p = 0,002$), а об'єм – $837,98 \pm 38,29 \text{ см}^3$ ($p = 0,008$), що більше на 15 % та 19 % відповідно. Також зазначалися незначні коливання даних до більших значень порівняно з гострим хоріоамніонітом. З отриманих середніх органометричних показників груп плацент із хронічним ХА у поєднанні зі ЗДАВ стало відомо, що ЗДАВ призводить до різкого зниження маси до 8 % ($453,48 \pm 3,64 \text{ г}$, $p < 0,001$), товщини до 15 % ($2,58 \pm 0,06 \text{ см}$, $p = 0,001$) та об'єму органа 17 % ($694,23 \pm 23,70 \text{ см}^3$, $p < 0,001$) порівняно з плацентами при хронічному запаленні без ЗДАВ і є наближеними до показників фізіологічної вагітності. Проте дані зміни не характерні для площі материнської поверхні ($266,57 \pm 3,45 \text{ см}^2$, де $p > 0,05$), яка незмінно наближена до площі плацент відносної норми.

Маса новонароджених у групі спостережень із хронічним хоріоамніонітом становила $3095,0 \pm 21,48 \text{ г}$, а у поєднанні зі ЗДАВ – $2963,0 \pm 64,78 \text{ г}$. Оцінка дітей за шкалою Апгар при хронічному хоріоамніоніті у середньому дорівнює – $7,9 \pm 0,21$, в при ХА в поєднанні зі ЗДАВ – $7,36 \pm 0,23$. З отриманих даних помітне значне зменшення маси новонароджених при запаленні (на 9,2 %) та запаленні у поєднанні зі ЗДАВ (14,1 %), де в усіх спостереженнях $p < 0,001$. Така ж закономірність спостерігалася при аналізі даних оцінки стану новонароджених за шкалою Апгар. Так, при хронічному ХА середні дані зі статистичною розбіжністю менші за показники плацент фізіологічної норми на 7 %, а при коморбідній ЗДАВ – на 11,5 %.

При хронічному хоріоамніоніті гістологічно запальний інфільтрат виявлявся в тих же структурах, що і при гострому хоріоамніоніті, проте основу становили клітини хронічного запалення: переважно малі зрілі лімфоцити, великі лімфоїдні клітини та імунобласти (рис. 5.1). Також до складу інфільтрату входили плазматичні клітини та гістіоцити.

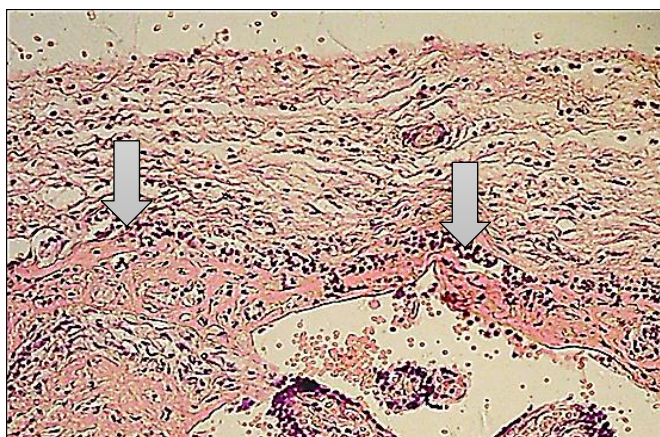


Рисунок 5.1 – Спостереження хронічного плацентарного хоріоамніоніту. Стрілкою вказано запальний інфільтрат із зрілих лімфоцитів, плазматичних клітин та гістіоцитів в хоріальній пластинці плаценти. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення: Об.40^x.Ок.10^x

Під час наших досліджень використана запропонована Chong Jai Kim, Roberto Romero та ін. система оцінки тяжкості хронічного ХА [160]. Зокрема, у спостереженнях з запаленням (n=23) та запаленням у поєднанні зі ЗДАВ (n=21) запальний інфільтрат мав здебільшого вогнищевий характер у 37 спостереженнях, що у відсотковому співвідношенні становив 84 % і відповідало 1-му класу тяжкості, та лише в 7 (16 %) – дифузний характер, що відповідно є 2-м класом тяжкості. Спостерігалися також ознаки хронічного запалення у великих судинах хоріальної пластинки (3 плаценти – 14 %).

Сполучно-тканинні волокна хоріальної пластинки нерівномірної щільності. Міжворсинчастий простір різко звужений через масивне відкладання фібриноїду та солей кальцію. У значній кількості плацент були ознаки виражених компенсаторно-приспосувальних процесів у формі багатьох синцитіальних вузликів та посиленої васкуляризації термінальних ворсин. Дані особливості необхідно трактувати, як наявність компенсаторної хронічної плацентарної недостатності. Проте у плацентах із коморбідною ЗДАВ переважали осередки патологічного варіанта незрілості ворсин: хаотично склерозованих та з наявністю дрібних, безладно розташованих

гіповаскуляризованих ворсин серед типових термінальних. На противагу першому, ці ознаки свідчили про зменшення компенсаторного ангіоматозу.

5.2 Гістохімічне та хемілюмінесцентне дослідження плацент

Показники питомого об'єму та оптичної густини гістохімічного забарвлення колагенових волокон хоріальної пластинки при хронічному хоріоамніоніті на тлі ЗДАВ та без неї наведені в таблиці (табл. 5.1).

Таблиця 5.1 – Кількісні показники питомого об'єму та оптичної густини гістохімічного забарвлення за методом за Н.З. Слінченко колагенових волокон хоріальної пластинки плаценти при хронічному хоріоамніоніті на тлі залізодефіцитної анемії вагітних та без неї ($M \pm m$)

Структура хоріальної пластинки плаценти	Спостереження хронічного хоріоамніоніту при вагітності без анемії (n=23)		Спостереження хронічного хоріоамніоніту при залізодефіцитній анемії вагітних (n=21)	
	Питомий об'єм (%)	Оптична густина (од. опт. густ.)	Питомий об'єм (%)	Оптична густина (од. опт. густ.)
Мезодермальна основа амніона	$28 \pm 0,5$ $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$	$0,322 \pm 0,0028$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	$29 \pm 0,6$ $p_3 > 0,05$ $p_4 > 0,05$	$0,337 \pm 0,0029$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,001$
Спонгіозний шар хоріальної пластинки	$5 \pm 0,4$ $p_1 = 0,03$ $p_2 = 0,03$	$0,312 \pm 0,0021$ $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$	$5 \pm 0,3$ $p_3 > 0,05$ $p_4 = 0,03$	$0,329 \pm 0,0021$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,001$
Мезодермальна основа хоріальної пластинки	$33 \pm 0,5$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	$0,329 \pm 0,0028$ $p_1 < 0,001$ $p_2 = 0,03$	$38 \pm 0,5$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,001$	$0,338 \pm 0,0018$ $p_3 = 0,02$ $p_4 < 0,001$

Примітка: p_1 – вірогідність різниці двох середніх між фізіологічною вагітністю та досліджуваною групою; p_2 – вірогідність різниці двох середніх між групою плацент зі ЗДАВ та досліджуваною групою; p_3 – вірогідність різниці двох середніх між ХА та ХА у поєднанні зі ЗДАВ; p_4 – вірогідність різниці двох середніх між ХА у поєднанні зі ЗДАВ та ЗДАВ без запалення.

Питомий об'єм колагенових волокон при хронічному хоріоамніоніті зростав у спонгіозному шарі та мезодермальній основі хоріальної пластинки

порівняно з фізіологічною вагітністю та ЗДАВ без запалення. Щодо оптичної густини, то середні дані були більшими в усіх трьох шарах, а порівняно зі ЗДАВ – тільки у мезодермальній основі амніона та мезодермальній основі ХП. Збільшення питомого об'єму колагенових волокон при запаленні посліду на тлі ЗДАВ відбувалося тільки у мезодермальній основі ХП, що і можна оцінити візуально на мікроскопічних зображеннях (рис. 5.2). Проте зростання показників оптичної густини при коморбідній ЗДАВ відбувалося в усіх трьох шарах хоріальної пластинки порівняно із спостереженнями хронічного ХА та ЗДАВ без запалення.

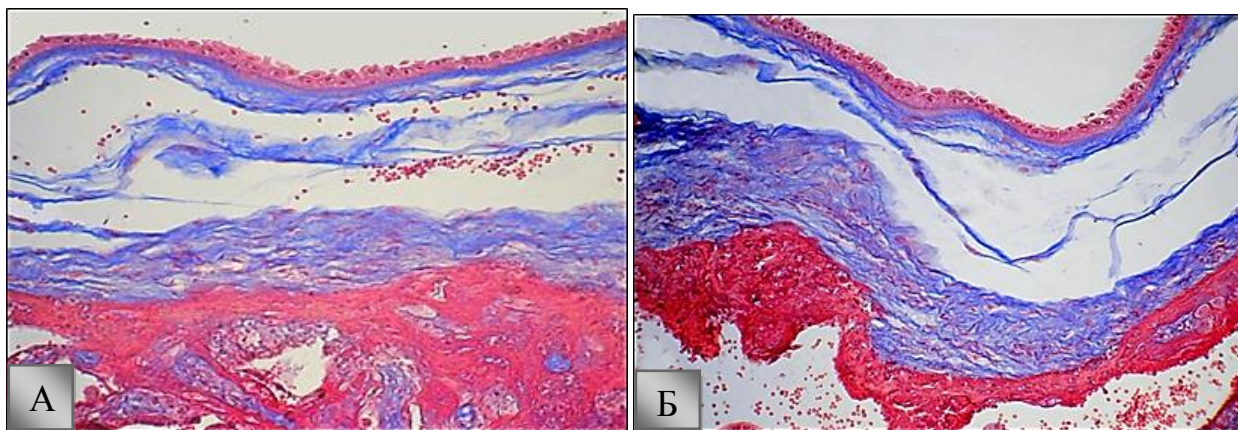


Рисунок 5.2 – Забарвлення колагенових волокон хоріальної пластинки.

А – інтенсивність забарвлення при хронічному хоріоамніоніті; Б – більш інтенсивне забарвлення колагенових волокон при хронічному хоріоамніоніті на тлі ЗДАВ. Забарвлення хромотропом-водним блакитним за Н.З.

Слінченко. Збільшення: Об.40^x.Ок.10^x

Порівняльні дані показників питомого об'єму та оптичної густини гістохімічного забарвлення колагенових волокон між гострим та хронічним запаленням хоріальної пластинки у поєднанні зі ЗДАВ та без неї продемонстровані на діаграмах (рис. 5.3 та 5.4).

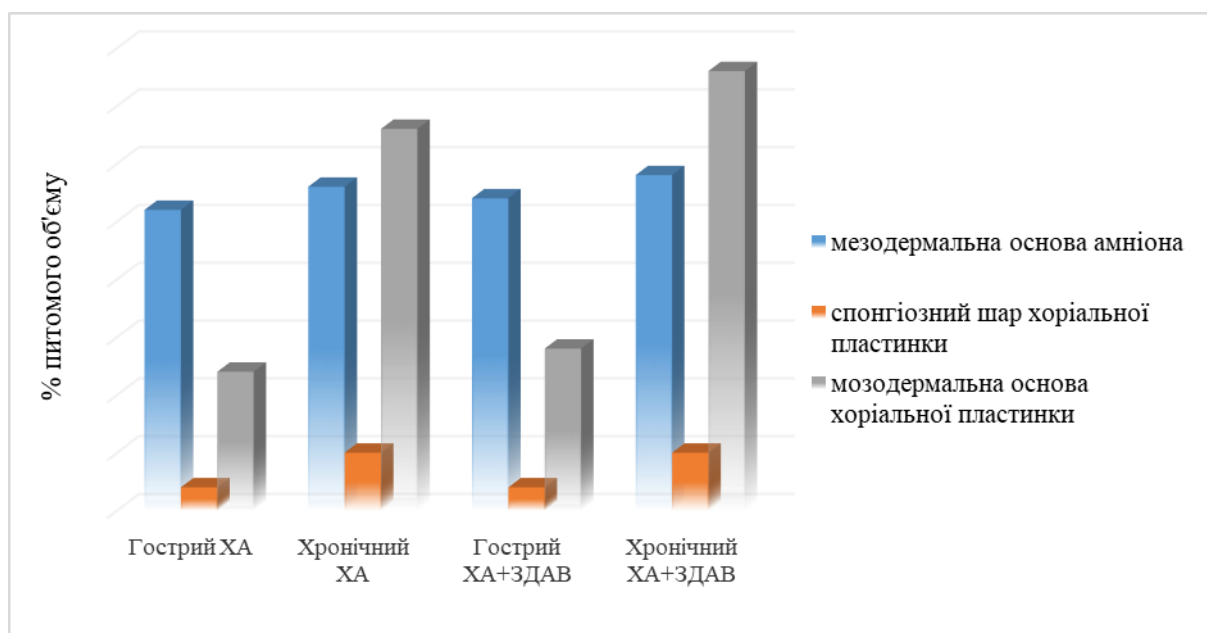


Рисунок 5.3 – Порівняння питомого об'єму колагенових волокон хоріальної пластинки плаценти між гострим і хронічним хоріоамніонітом без анемії та у поєднанні зі ЗДАВ

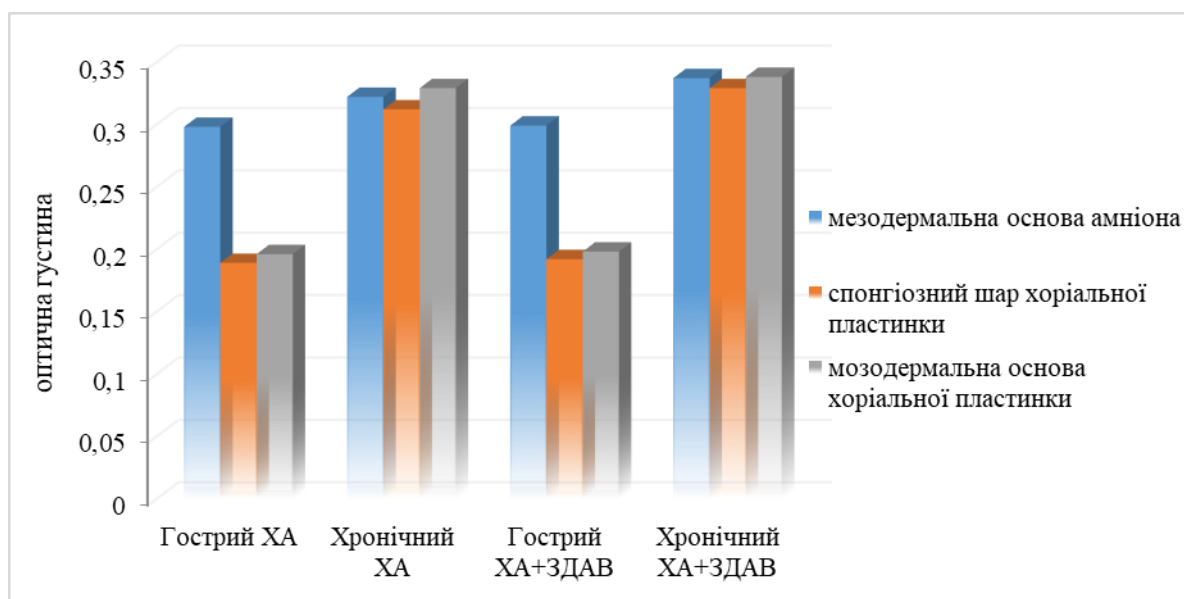


Рисунок 5.4 – Порівняння оптичної густини гістохімічного забарвлення колагенових волокон хоріальної пластинки плаценти між гострим та хронічним хоріоамніонітом без анемії та у поєднанні зі ЗДАВ

З рисунків стає зрозуміло, що при хронічному перебігу хоріоамніоніту показники питомого об'єму колагенових волокон та оптичної густини в усіх

шарах ХП є статистично вищими за гострий ($p < 0,001$). Це ж спостерігається при запаленні на тлі залізодефіцитної анемії вагітних.

Кількісні показники ступеня ОМБ зазначені у таблиці (табл. 5.2).

Таблиця 5.2 – Коефіцієнт R/V в окремих структурах хоріальної пластинки плаценти при хронічному хоріоамніоніті на тлі залізодефіцитної анемії вагітних та без неї ($M \pm m$)

Структури плаценти	Спостереження хронічного хоріоамніоніту при вагітності без анемії (n=23)	Спостереження хронічного хоріоамніоніту при залізодефіцитній анемії вагітних (n=21)
Ендотеліоцити кровоносних судин хоріальної пластинки плаценти	$1,38 \pm 0,016$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	$1,56 \pm 0,021$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,001$
Фібриноїд хоріальної пластинки плаценти	$2,23 \pm 0,014$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	$2,71 \pm 0,016$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,001$

Примітка: p_1 – вірогідність різниці двох середніх між фізіологічною вагітністю та досліджуваною групою; p_2 – вірогідність різниці двох середніх між групою плацент зі ЗДАВ та досліджуваною групою; p_3 – вірогідність різниці двох середніх між ХА та ХА у поєднанні зі ЗДАВ; p_4 – вірогідність різниці двох середніх між ХА у поєднанні зі ЗДАВ та ЗДАВ без запалення.

При хронічному хоріоамніоніті, згідно з отриманими результатами спектрометрії, ступінь ОМБ в усіх досліджуваних структурах хоріальної пластинки плаценти був більшим, ніж у плацентах фізіологічної вагітності та ЗДАВ без запалення. Найбільше виражені при хронічному запаленні ці процеси виявлялися у фібриноїді. При коморбідній ЗДАВ інтенсифікуються процеси ОМБ як у фібриноїді, так і в ендотеліоцитах хоріальної пластинки плаценти і відповідно кількісні показники були також більшими за показники плацент ЗДАВ без запалення.

Нижче запропоновані мікрофотографії при забарвленні зрізів плаценти бромфеноловим синім за Mikel Calvo при хронічному ХА без анемії та з коморбідною ЗДАВ (рис. 5.5 та 5.6).

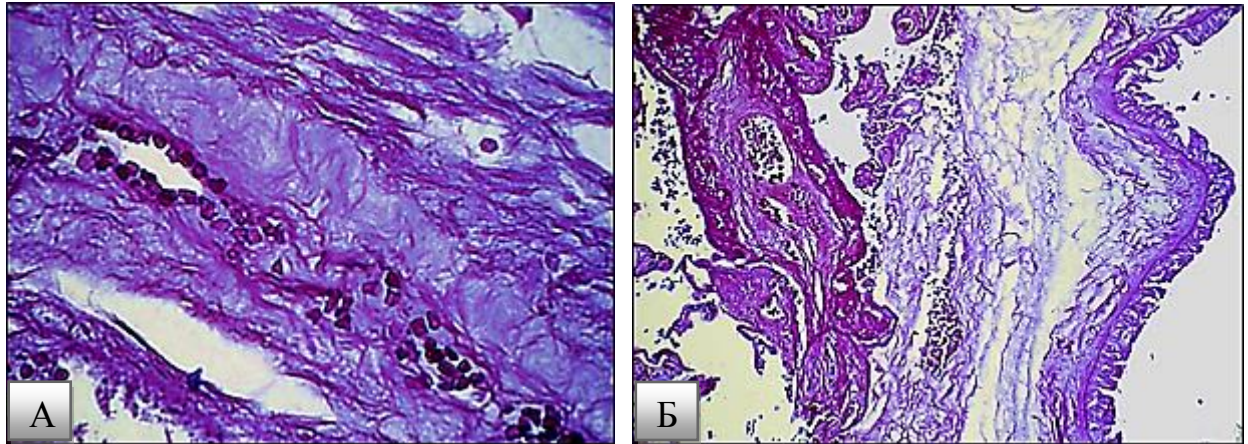


Рисунок 5.5– Хронічний плацентарний хоріоамніоніт. Зміщення кольору забарвлення у червону частину спектру в ендотелії кровоносної судини (А) та фібриноїді хоріальної пластинки (Б), що свідчить про переважання карбоксильних груп білків над аміногрупами. Гістохімічна методика з бромфеноловим синім за Mikel Calvo. Збільшення: Об.40^x.Ок.10^x

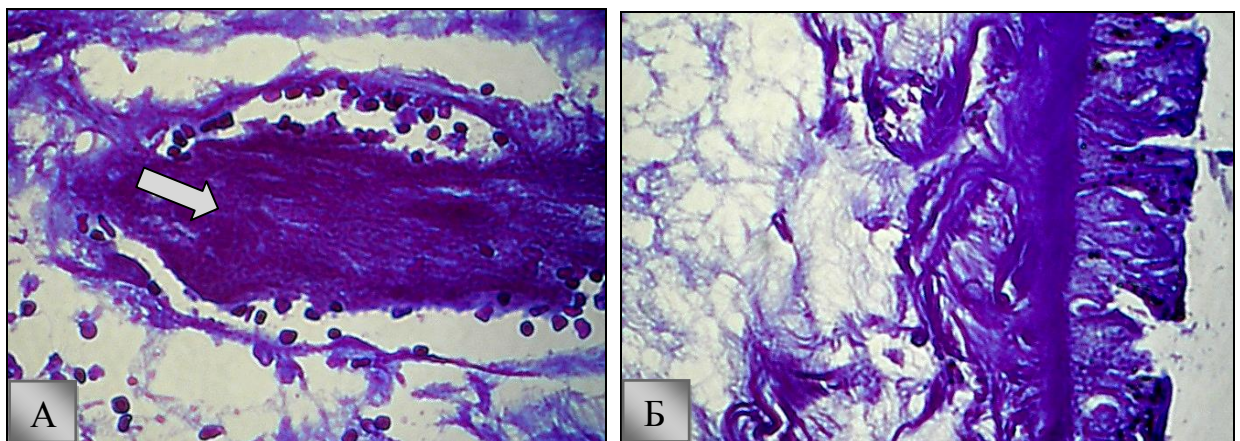


Рисунок 5.6 – Хронічний плацентарний хоріоамніоніт на тлі ЗДАВ. Переважання карбоксильних груп білків над аміногрупами. А – ендотелій кровоносної судини. Б – фібриноїд хоріальної пластинки. У просвіті кровоносної судини візуалізується тромб. Гістохімічна методика з бромфеноловим синім за Mikel Calvo. Збільшення: Об.40^x.Ок.10^x

За допомогою діаграми (рис. 5.7) показані зіставлені кількісні показники коефіцієнта R/V в ендотеліоцитах і фібриноїді хоріальної пластинки плаценти між групами дослідження гострого та хронічного ХА на тлі ЗДАВ.

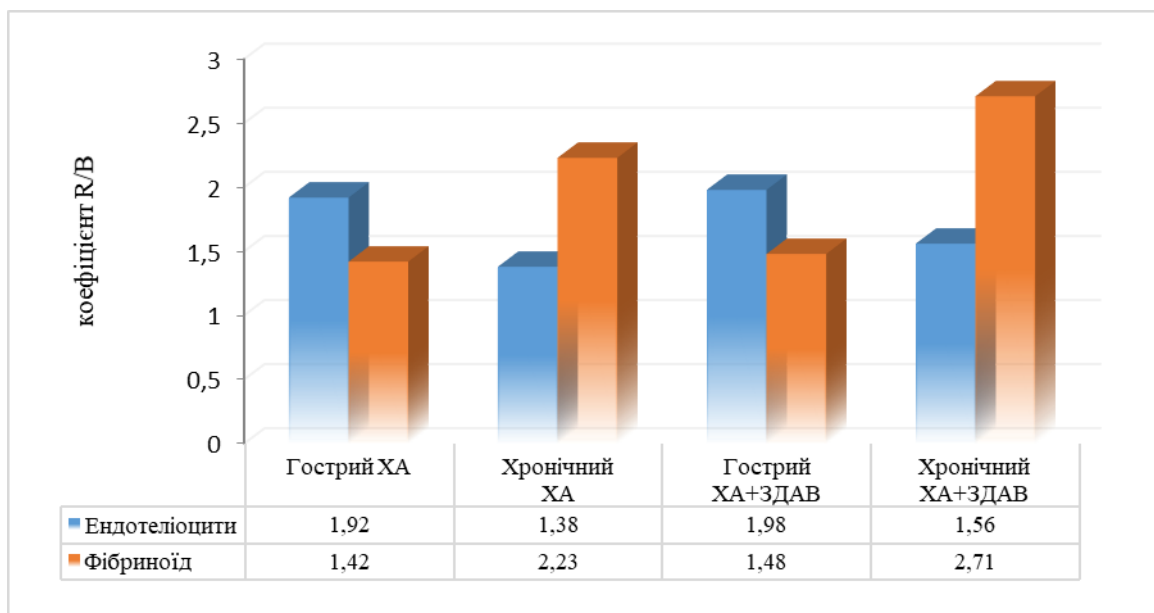


Рисунок 5.7 – Порівняння показників коефіцієнта R/V в ендотеліоцитах та фібриноїді хоріальної пластинки плаценти між гострим та хронічним хоріоамніонітом без анемії та в поєднанні зі ЗДАВ

Стає зрозумілим як при гострому запаленні ($p < 0,001$), так і в поєднанні зі ЗДАВ ($p < 0,001$) процеси ОМБ найбільше виражені в ендотеліоцитах, проте при хронізації процесу вони інтенсивніші у фібриноїді хоріальної пластинки плаценти ($p < 0,001$).

Середні кількісні показники хемілюмінесцентного світіння нітропероксидів у ендотеліоцитах кровоносних судин хоріальної пластинки плаценти при хронічному хоріоамніоніті (рис 5.8) становили – $112 \pm 4,2$ ум. од. св., які є вищими за показники фізіологічної вагітності, де $p < 0,001$.

При коморбідній ЗДАВ зростали показники інтенсивності світіння нітропероксидів, що становило – $133 \pm 4,5$ ум. од. св. ($p = 0,001$), яка вища за показники хемілюмінесценції відносно фізіологічної вагітності ($p < 0,001$) та

ЗДАВ без запалення ($p < 0,001$). Інтенсивність світіння радикалів представлена на рисунку (рис. 5.8). Як і в спостереженнях із гострим хоріоамніонітом, хемілюмінесцентне світіння ендотеліоцитів, після обробки люмінолом, мало нерегулярний характер. Однак майже не візуалізуються екстраваскулярні осередки хемілюмінесценції.

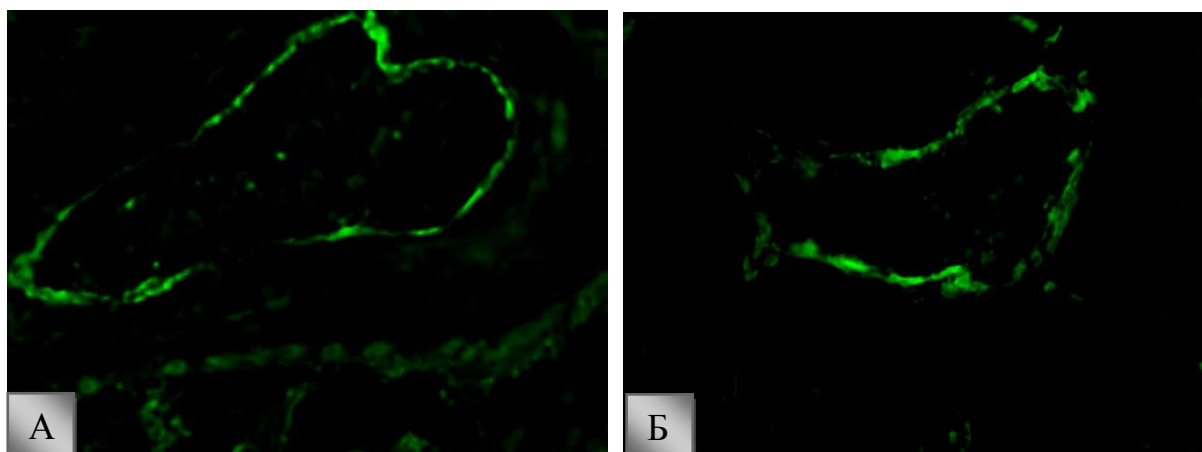


Рисунок 5.8 – Інтенсивність світіння нітропероксидів в ендотеліоцитах кровоносної судини. А – хронічний плацентарний хоріоамніоніт. Б – хронічний плацентарний хоріоамніоніт на тлі ЗДАВ. Хемілюмінесцентне дослідження з люмінолом. Збільшення: $06.40^{\times}$. Ок. $10^{\times}$

Дані про високий рівень нітропероксидів при коморбідній ЗДАВ служить обґрунтуванням отриманих при гістохімічному методі дослідження з бромфеноловим синім за Mikel Calvo підвищених показників коефіцієнта R/B, що і підтверджується кореляційним аналізом за методом Пірсона. Так, коефіцієнт кореляції в ендотеліоцитах кровоносних судин хоріальної пластинки плаценти становить $r=0,793$ ($p < 0,05$), що свідчить про сильні зв'язки.

За допомогою діаграми (рис. 5.9) продемонстровані зіставлені кількісні показники інтенсивності яскравості нітропероксидів в ендотеліоцитах хоріальної пластинки плаценти між групами дослідження гострого та хронічного хоріоамніоніту із залізодефіцитною анемією вагітних та без неї.

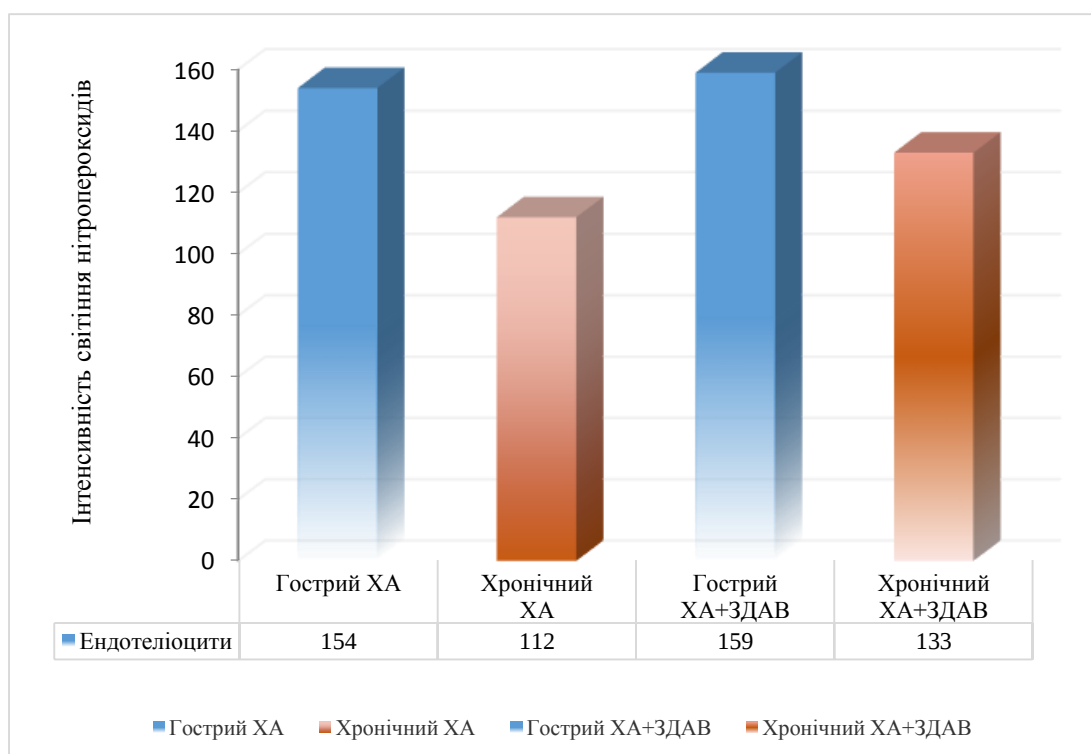


Рисунок 5.9 – Порівняння показників інтенсивності яскравості нітропероксидів в ендотеліоцитах хоріальної пластинки плаценти між гострим і хронічним хоріоамніонітом на тлі ЗДАВ та без неї

Можна дійти висновків, що більша кількість нітропероксидів в ендотеліоцитах кровоносних судин хоріальної пластинки плаценти утворюється при гострому хоріоамніоніті ($p < 0,001$) і, відповідно, це ж характерне для гострого хоріоамніоніту у поєднанні зі залізодефіцитною анемією вагітних.

За допомогою нінгідриново-шиффової реакції на вільні аміногрупи білків з наступним аналізом за допомогою комп'ютерної мікроденситометрії (рис. 5.10) отримані дані про суттєве зростання процесів обмеженого протеолізу в спостереженнях, зазначених у таблиці (табл. 5.3).

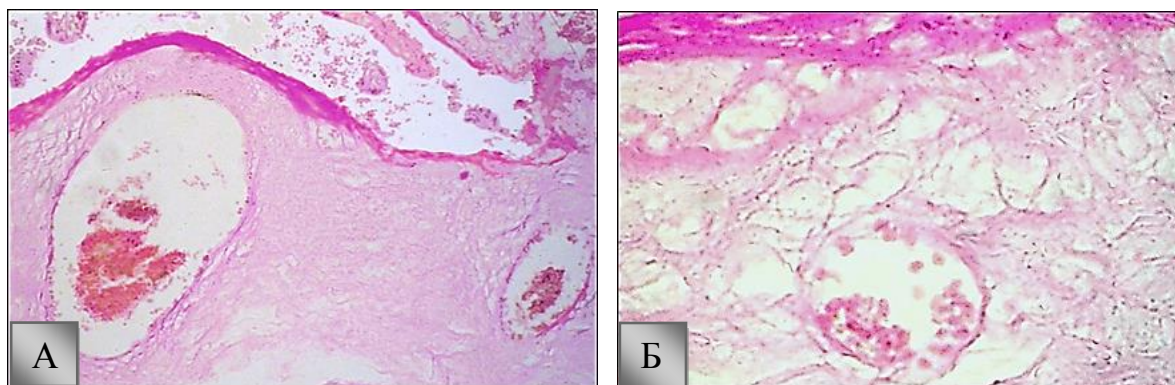


Рисунок 5.10 – Інтенсивність гістохімічного забарвлення на вільні NH_2 групи білків в ендотеліоцитах кровоносної судини та фібриноїд. А – хронічний плацентарний хоріоамніоніт. Б – переважання обмеженого протеолізу при хронічному плацентарному хоріоамніоніті на тлі ЗДАВ. Нінгідриново-шиффовська реакція за методом А. Yasuma та Т. Ichikawa. Збільшення: $06.40^{\times}.0\kappa.10^{\times}$

Таблиця 5.3 – Визначення вільних аміногруп білків у структурах хоріальної пластинки плаценти при хронічному на тлі залізодефіцитної анемії вагітних та без неї ($M \pm m$)

Структури плаценти	Спостереження хронічного хоріоамніоніту при вагітності без анемії (n=23)	Спостереження хронічного хоріоамніоніту при залізодефіцитній анемії вагітних (n=21)
Ендотеліоцити кровоносних судин хоріальної пластинки плаценти	$0,205 \pm 0,0021$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	$0,224 \pm 0,0015$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,001$
Фібриноїд хоріальної пластинки плаценти	$0,316 \pm 0,0024$ $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$	$0,339 \pm 0,0036$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,001$

Примітка: p_1 – вірогідність різниці двох середніх між фізіологічною вагітністю та досліджуваною групою; p_2 – вірогідність різниці двох середніх між групою плацент зі ЗДАВ та досліджуваною групою; p_3 – вірогідність різниці двох середніх між ХА та ХА у поєднанні зі ЗДАВ; p_4 – вірогідність різниці двох середніх між ХА у поєднанні зі ЗДАВ та ЗДАВ без запалення.

При хронічному хоріоамніоніті підвищувалися показники оптичної густини гістохімічного забарвлення, як у ендотеліоцитах кровоносних судин хоріальної пластинки плаценти, так і у фібриноїді порівняно з фізіологічною вагітністю. А відносно групи спостереження зі ЗДАВ без запалення – тільки в ендотеліоцитах зі статистично достовірною розбіжністю зростають показники ($p < 0,001$). При хронічному запаленні на тлі ЗДАВ посилювалися процеси обмеженого протеолізу, як у ендотеліоцитах, так і фібриноїді. Це ж спостерігалось відносно спостережень плацент зі ЗДАВ без запалення.

З метою пошуку взаємозв'язку між інтенсивністю яскравості нітропероксидів та процесами обмеженого протеолізу визначали коефіцієнт кореляції за методом Пірсона. Так, за показниками оптичної густини гістохімічного забарвлення $r = 0,704$ ($p < 0,05$), а кореляційний зв'язок обмеженого протеолізу з процесами ОМБ зі статистичною вірогідністю ($p < 0,05$) становив $r = 0,783$.

Порівняльна характеристика між спостереженнями гострого та хронічного хоріоамніоніту зі ЗДАВ та без неї, щодо вивчення процесів обмеженого протеолізу, висвітлена за допомогою діаграми (рис. 5.11).

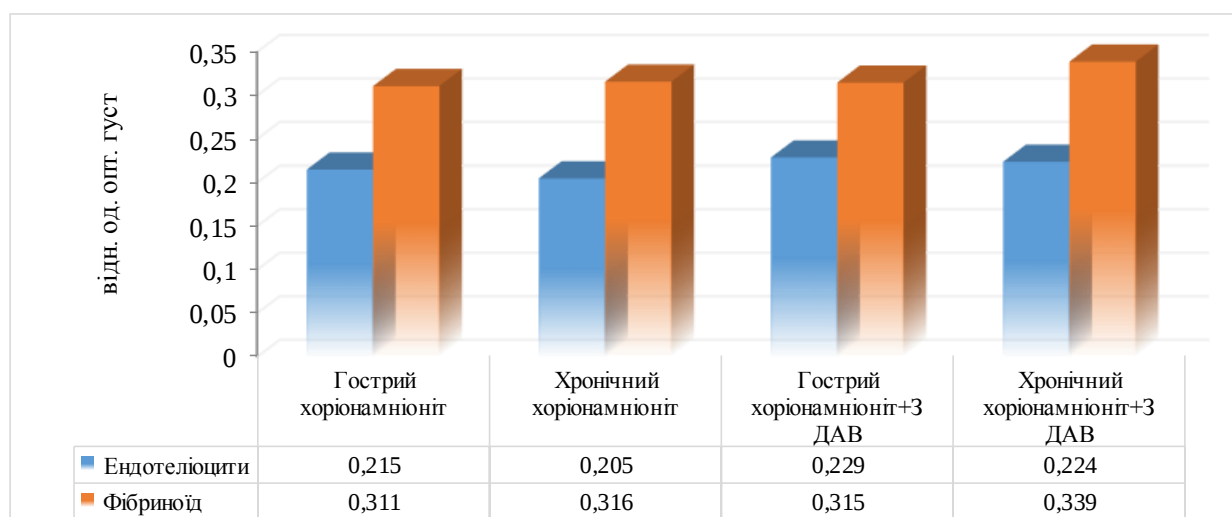


Рисунок 5.11 – Порівняння показників оптичної густини гістохімічного забарвлення на вільні аміногрупи білків ендотеліоцитах та фібриноїді хоріальної пластинки плаценти між гострим і хронічним хоріоамніонітом без анемії та у поєднанні зі ЗДАВ

Показано, що при хронічному хоріоамніоніті порівняно з гострим тільки у фібриноїді спостерігаються коливання параметрів оптичної густини. Цікаво, що ці зрушення схиляються до менших значень ($p < 0,001$). При цьому при запаленні на тлі ЗДАВ не спостерігається статистично достовірної розбіжності в усіх вивчених структурах плаценти та у середньому наближені до плацент із гострим хоріоамніонітом у поєднанні зі ЗДАВ.

5.3 Імуногістохімічне дослідження плацент

У гістологічних зрізах препаратів плаценти при застосуванні імуногістохімічної методики на визначення фактору von Willebrand, з ознаками хронічного хоріоамніоніту та з запаленням на тлі ЗДАВ подекуди траплялися невеликі групи круглястих клітин різної форми, які також інтенсивно забарвлювалися, що ймовірно можна трактувати як процес новоутворення кровоносних судин, тобто ці об'єкти відображали процеси ангиогенезу (рис. 5.12 та 5.13).

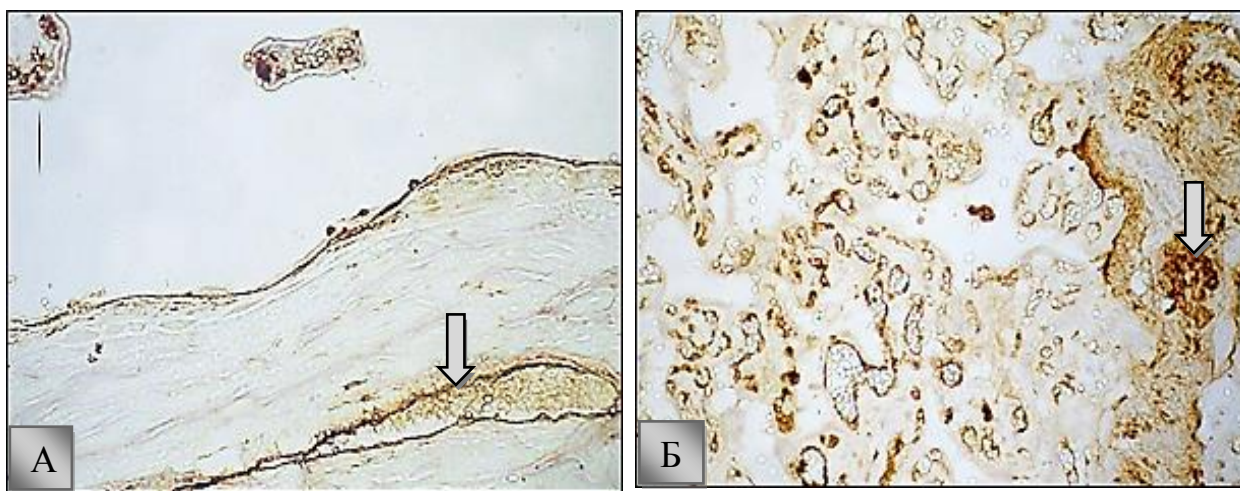


Рисунок 5.12 – Експресія фактору von Willebrand у структурах плаценти при хронічному плацентарному хоріоамніоніті. А – ендотеліоцити кровоносної судини (↑). Б – фібриноїд хоріальної пластинки (↓). Імуногістохімічна методика. Збільшення: Об.40^x.Ок.10^x

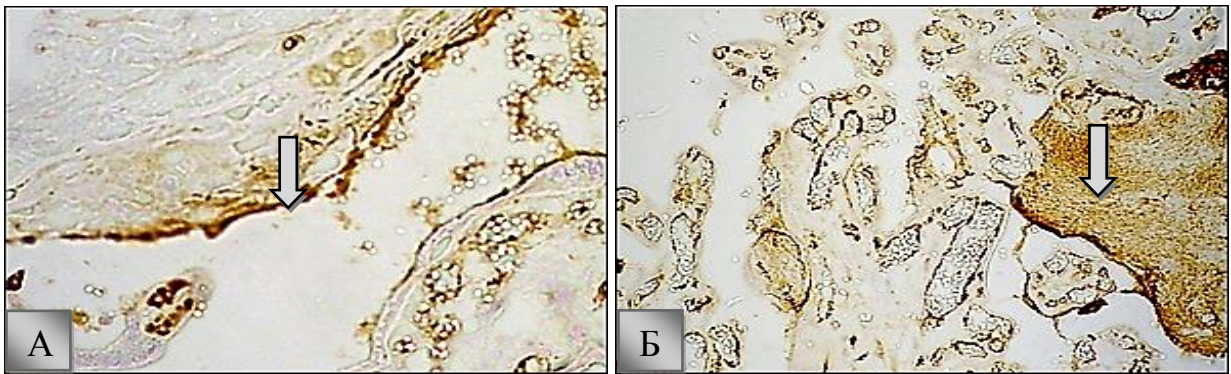


Рисунок 5.13 – Експресія фактору von Willebrand у структурах плаценти при хронічному плацентарному хоріоамніоніті на тлі ЗДАВ. А – ендотеліоцити кровоносної судини (↑). Б – фібриноїд хоріальної пластинки (↑).

Імуногістохімічна методика. Збільшення: Об.40^x.Ок.10^x

Кількісні показники оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на фактор von Willebrand у структурах хоріальної пластинки при хронічному хоріоамніоніті на тлі ЗДАВ та без неї наведені в таблиці 5.4.

Таблиця 5.4 – Показники оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на фактор von Willebrand у структурах хоріальної пластинки плаценти при хронічному хоріоамніоніті на тлі залізодефіцитної анемії вагітних та без неї ($M \pm m$)

Структури плаценти	Спостереження хронічного хоріоамніоніту при вагітності без анемії (n=23)	Спостереження хронічного хоріоамніоніту при залізодефіцитній анемії вагітних (n=21)
Ендотеліоцити кровоносних судин хоріальної пластинки плаценти	$0,328 \pm 0,0025$ $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$	$0,385 \pm 0,0027$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,001$
Фібриноїд хоріальної пластинки плаценти	$0,158 \pm 0,0030$ $p_1 < 0,001$ $p_2 = 0,02$	$0,171 \pm 0,0036$ $p_3 = 0,009$ $p_4 < 0,001$

Примітка: p_1 – вірогідність різниці двох середніх між фізіологічною вагітністю та досліджуваною групою; p_2 – вірогідність різниці двох середніх між групою плацент зі ЗДАВ та досліджуваною групою; p_3 – вірогідність різниці двох середніх між ХА та ХА у поєднанні зі ЗДАВ; p_4 – вірогідність різниці двох середніх між ХА у поєднанні зі ЗДАВ та ЗДАВ без запалення.

Щодо кількісних показників мікроденситометрії стає помітно, що в усіх досліджуваних структурах у середньому зростала оптична густина імуногістохімічного забарвлення порівняно з фізіологічною вагітністю. Проте у співвідношенні зі ЗДАВ без запалення у ендотеліоцитах хоріальної пластинки плаценти не було статистично достовірних розбіжностей у середніх значеннях між спостереженнями на відміну від фібриноїду, де $p=0,02$.

При запалення на тлі залізодефіцитною анемією вагітних, відбувалося підвищення показників оптичної густини гістохімічного забарвлення із найвищими даними у ендотеліоцитах хоріальної пластинки плаценти. З високою статистично достовірною розбіжністю зростали відносні одиниці оптичної густини забарвлення у фібриноїді та ендотеліоцитах відносно плацент з гістологічно встановленим хронічним хоріоамніонітом у поєднанні зі ЗДАВ та ЗДАВ без запалення ($p<0,001$).

Зіставлені кількісні показники оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на фактор von Willebrand в ендотеліоцитах та фібриноїді хоріальної пластинки плаценти між гострим і хронічним хоріоамніонітом без анемії та у поєднанні зі ЗДАВ наведені на рисунку (рис. 5.14).

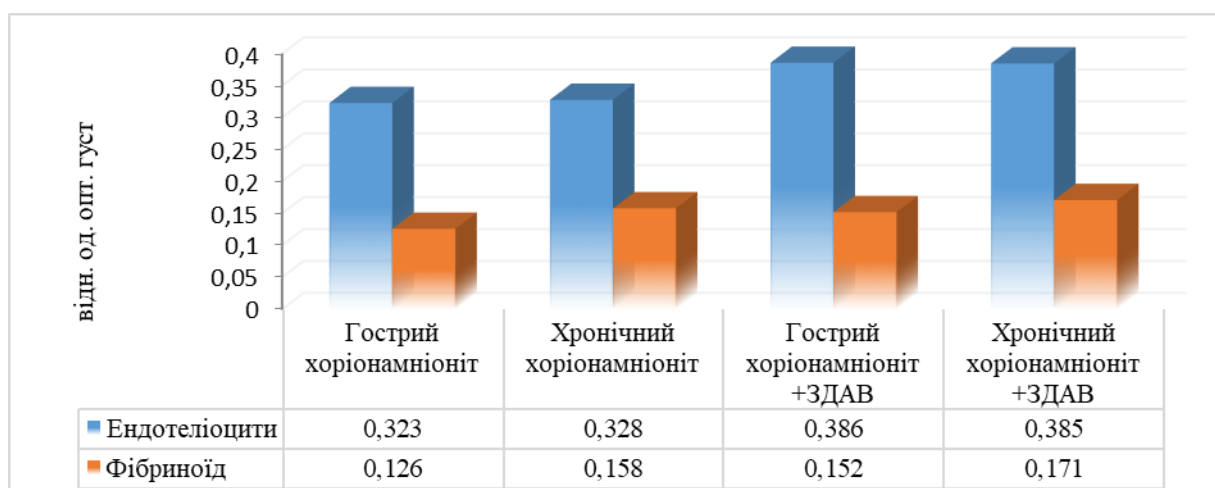


Рисунок 5.14 – Порівняння показників оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на фактор von Willebrand в ендотеліоцитах кровоносних судин і фібриноїді хоріальної пластинки плаценти між гострим і хронічним хоріоамніонітом без анемії та у поєднанні зі ЗДАВ

Як демонструють дані, тільки при дослідженні фібриноїду хоріальної пластинки плаценти показники оптичної густини забарвлення при хронічному хоріоамніоніті статистично вищі, за показники гострого ($p < 0,001$). Це спостерігається також у плацентах з запаленням у поєднанні зі ЗДАВ ($p < 0,001$).

Отримані мікроденситометричні показники оптичної густини гістохімічного забарвлення у синцитіотрофобласті хоріальних ворсинок, при використанні імуногістохімічної методики із застосуванням первинних антитіл до проапоптотичного білка Вах, показали (рис. 5.15), що при хронічному хоріоамніоніті вони з високою статистично достовірною розбіжністю більші за параметри плацент від фізіологічної вагітності та зі ЗДАВ без запалення та у середньому становили $0,218 \pm 0,0015$, де $p < 0,001$ в усіх випадках. У плацентах при поєднанні хронічного хоріоамніоніту зі ЗДАВ мікроденситометричні дані у середньому дорівнюють $0,230 \pm 0,0014$, що свідчить про зростання показників порівняно із спостереженнями запалення плаценти, фізіологічної вагітності та ЗДАВ без ознак запалення ($p < 0,001$ в усіх спостереженнях).

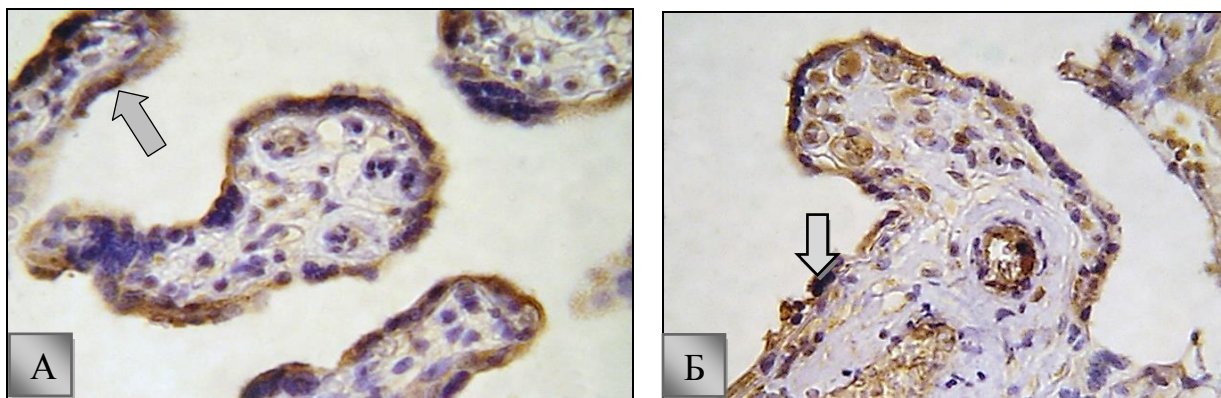


Рисунок 5.15 – Експресія проапоптотичного протеїну Вах у синцитіотрофобласті хоріальних ворсинок. А – хронічний плацентарний хоріоамніоніт (↑). Б – хронічний плацентарний хоріоамніоніт на тлі ЗДАВ (↑). Імуногістохімічна методика. Збільшення: Об.40^x.Ок.10^x

Зіставлені кількісні показники оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на проапоптотичний протеїн Вах у синцитіотрофобласті хоріальних

ворсинок плаценти між гострим і хронічним хоріоамніонітом без анемії та в поєднанні зі ЗДАВ наведені на рисунку (рис. 5.16).

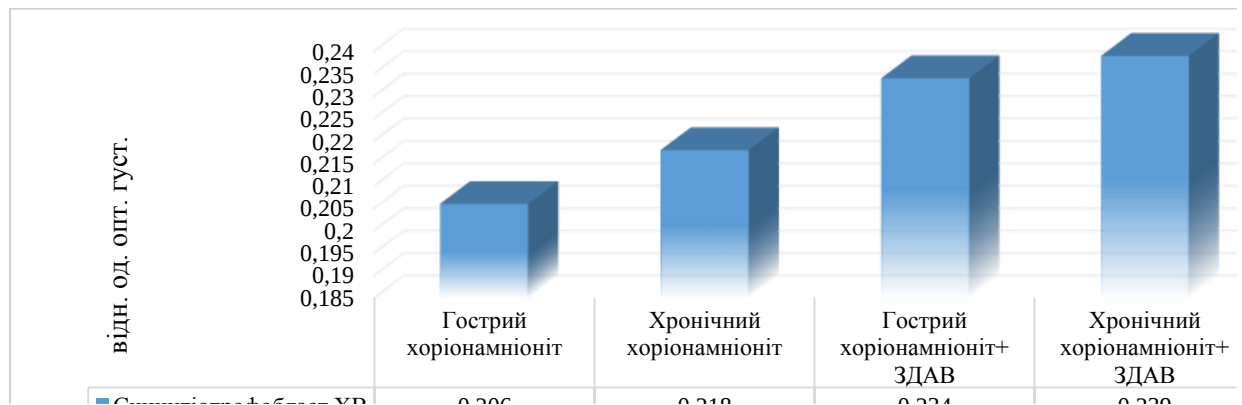


Рисунок 5.16 – Порівняння показників оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на протеїн Вах у синцитіотрофобласті хоріальних ворсинок між гострим і хронічним хоріоамніонітом без анемії та у поєднанні зі ЗДАВ

Відповідно до рисунка стає зрозумілим, що інтенсивність забарвлення, згідно з даними мікроденситометрії, більше виражені при хронічному запаленні ($p < 0,001$), а при коморбідній ЗДАВ – також і у спостереженнях плацент із хронічним хоріоамніонітом ($p = 0,009$).

Резюме

Підсумовуючи даний розділ, доходимо висновку, що поруч із незміненими параметрами площі материнської поверхні, при хронічному хоріоамніоніті збільшувалася маса, товщина та об'єм плаценти порівняно з плацентами фізіологічної вагітності. У плацентах з запаленням на тлі залізодефіцитної анемії вагітних ці параметри знижувалися відносно групи дослідження з запаленням без наявності залізодефіцитної анемії вагітних.

Відбувалися зміни у колагенових волокнах хоріальної пластинки плаценти при хронічному запаленні, що виявлялося у збільшенні питомого об'єму й оптичної густини гістохімічного забарвлення колагенових волокон, та ще більше при поєднанні із залізодефіцитною анемією вагітних, інтенсивність яких варіювала між досліджуваними шарами хоріальної пластинки плаценти.

Вивчення вільнорадикальних процесів при хронічному хоріоамніоніті, демонструє інтенсифікацію процесів окиснювальної модифікації білків за показниками коефіцієнта R/B, в ендотеліюцитах кровоносних судин із закономірним зростанням інтенсивності хемілюмінесцентного світіння у них нітропероксидів та підвищеними процесами обмеженого протеолізу. Загалом, з високою статистичною розбіжністю зростали ці процеси при коморбідній залізодефіцитній анемії вагітних. Закономірність між явищами, у плацентах з запаленням у поєднанні із анемією, підтверджується сильними кореляційними зв'язками. У фібриноїді процеси ОМБ (коефіцієнта R/B) та обмеженого протеолізу (відн. од. опт. густ. гістохімічного забарвлення на вільні аміногрупи білків) характеризувалися ще більшими кількісними показниками, ніж в ендотеліюцитах кровоносних судин. При коморбідній залізодефіцитній анемії вагітних відбувалась інтенсифікація вільнорадикальних процесів.

Відповідно до вище зазначених фактів, можна дійти висновку, що усі ці процеси, ймовірно, брали участь у надмірній екскреції ендотеліального фактору von Willebrand при хронічному хоріоамніоніті, що виявлялося високими показниками оптичної густини забарвлення в ендотеліюцитах кровоносних судин і фібриноїді, при застосуванні імуногістохімічної методики із первинними антитілами проти фактору von Willebrand та, ще більше, при поєднанні із залізодефіцитною анемією вагітних.

Крім того, отримані дані про зростання процесів апоптозу у синцитіотрофобласті хоріальних ворсинок плаценти при запаленні та, ще більше, у плацентах із коморбідною ЗДАВ. Все це може слугувати відображенням активації вільнорадикальних процесів та пояснювати зміни виявлених при органометричних дослідженнях плацент за хронічної форми хоріоамніоніту у поєднанні зі ЗДАВ.

Результати власних досліджень розділу 3 викладені у статтях [55, 56, 57, 58, 60, 61, 69, 171] та апробовані на наукових форумах [51, 52, 53, 54, 59, 62, 64, 65, 66, 67, 68]. Додатково відображені у патенті України на корисну модель [30] та в галузевому нововведенні [31].

РОЗДІЛ 6

МОРФОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ПЛАЦЕНТ ІЗ ГОСТРИМ БАЗАЛЬНИМ ДЕЦИДУЇТОМ ЗА УМОВ ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНОЇ АНЕМІЇ ВАГІТНИХ

У даному розділі нами подані результати виконаного гістологічного, органометричного, хемілюмінесцентного, сучасних гістохімічних та імуногістохімічних методів дослідження гострого базального децидуїту без анемії та при коморбідній ЗДАВ, з метою вивчення патоморфологічних особливостей гострого запалення базальної пластинки плаценти при поєднанні цих станів. Дослідження провели на 16 спостереженнях гострого базального децидуїту та 15 – гострого базального децидуїту при ЗДАВ.

6.1 Гістологічне й органометричне дослідження плацент

Макроскопічно встановлено, що плаценти із гострим перебігом базального децидуїту та з запаленням при коморбідній ЗДАВ не мали особливих відмінностей від спостережень фізіологічної вагітності. Плодова поверхня була гладка, блискуча, сіруватого кольору, прикріплення пуповини в більшості спостережень (при гострому базальному децидуїті в 14 спостереженнях – 87,5 %, а в групі плацент з запаленням у поєднанні зі ЗДАВ у 12 спостережень, що становить 75 %) в центральній її частини з радіальним розгалуженням судин. В усіх інших спостереженнях воно було ексцентричне та більше виражене при поєднанні зі ЗДАВ.

Материнська поверхня плаценти темно-коричневого кольору, з темно-сірими або жовтими плямами обумовлені некрозом. На відміну від плацент фізіологічної вагітності величина та форма котиледонів сильно варіювали, межі контурувалися нечітко. Макроскопічно візуалізувались ознаками некрозу, осередки крововиливу та кальцинозу, борозни різної глибини, були

наявні осередки ішемічних інфарктів різних розмірів, здебільшого в парацентральної, а інколи у крайових зонах плаценти.

Морфометричні показники плацент із гострим базальним децидуїтом змінювалися порівняно з фізіологічною вагітністю до більших значень в масі $484,84 \pm 4,03$ г ($p < 0,001$) на 6 % та в товщині $2,91 \pm 0,09$ см ($p = 0,006$) на 12 %. Об'єм плаценти дорівнював $784,21 \pm 28,96$ см³, при нормі $685,9 \pm 38,66$ см³ (більше на 13 %), де $p = 0,04$. Площа материнської поверхні наближена до показників плацент фізіологічної вагітності, які у середньому сягали – $268,88 \pm 3,99$ см², де $p > 0,05$.

Аналіз даних органометрії плацент із гострим базальним децидуїтом у поєднанні зі ЗДАВ показав, що чимало параметрів значно нижчі, ніж у плацент з запаленням без анемії. Зокрема, це стосувалося маси ($464 \pm 4,38$ г, $p = 0,001$) на 4 %, товщини ($2,55 \pm 0,11$ см, $P = 0,001$) на 12 % та об'єму органа ($674,78 \pm 33,03$ см³, $p < 0,001$) до 14 %, і вони були наближеними до показників плацент фізіологічної вагітності, але вищі за групу плацент зі ЗДАВ без запалення. Проте дана закономірність не характерна для площі материнської поверхні – $261,5 \pm 2,14$ см², де $p > 0,05$, яка незмінно залишалася в межах контрольних показників.

Із ретроспективного аналізу карт вагітних стало відомо, що при гострому запаленні базальної пластинки плаценти середня маса новонароджених дітей дорівнювала $3468 \pm 34,53$ г, де $p > 0,05$ щодо фізіологічної вагітності, а оцінка за шкалою Апгар $7,86 \pm 0,20$ ($p > 0,05$). У групі плацент у поєднанні запалення зі ЗДАВ була тенденція до зниження вищевказаних параметрів. Маса новонароджених становила $3126 \pm 42,28$ г, що зі статистичною розбіжністю менше на 9,86 % ($p < 0,001$), а середні кількісні дані щодо оцінки за шкалою Апгар дорівнювали $7,65 \pm 0,17$, що менше на 2,67 % ($p > 0,05$).

При гістологічному дослідженні у групі плацент із гострим БД та гострим БД у поєднанні зі ЗДАВ ознаки запалення проявлялися у вигляді виражених лімфоїдно-клітинних інфільтрацій із великою кількістю

поліморфно-ядерних лейкоцитів та осередками некрозу базальної пластинки плаценти (рис. 6.1). Децидуоцити – з ознаками дистрофічних змін, частина з них із явищами апоптозу й апонекрозу. Судини повнокровні, з вираженими проявами васкуліту їх стінок, дистрофічних та проліферативних змін. У просвіті судин були осередки тромбозу та кальцифікатів.

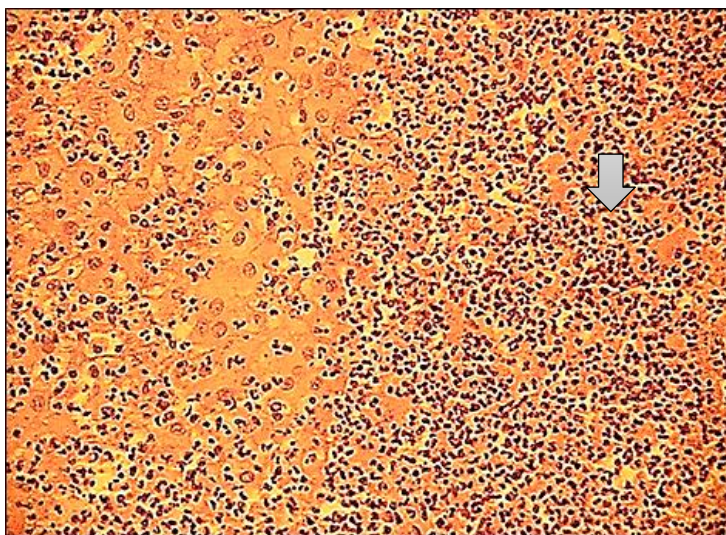


Рисунок 6.1 – Гострий базальний децидуїт. Стрілкою вказано запальний інфільтрат у базальній пластинці плаценти. Децидуоцити з ознаками дистрофічних змін, з явищами апоптозу й апонекрозу. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення: Об.20^x.Ок.10^x

У плацентах із гострим базальним децидуїтом у поєднанні зі ЗДАВ, окрім проявів запалення, гістологічно візуалізувалися зміни, тотожні з тими, які констатувалися у плацент зі ЗДАВ.

6.2 Гістохімічне та хемілюмінесцентне дослідження плацент

Результати вимірювання питомого об'єму та оптичної густини гістохімічного забарвлення колагенових волокон базальної пластинки плаценти при забарвленні гістологічних препаратів хромотропом-водним блакитним за Н. З. Слінченко наведені в таблиці (табл. 6.1).

Таблиця 6.1 – Кількісні показники питомого об'єму та оптичної густини гістохімічного забарвлення колагенових волокон базальної пластинки плаценти при гострому базальному децидуїті на тлі залізодефіцитної анемії вагітних та без неї ($M \pm m$)

Структура плаценти	Спостереження гострого базального децидуїту при вагітності без анемії (n=16)		Спостереження гострого базального децидуїту при залізодефіцитній анемії вагітних (n=15)	
	Питомий об'єм (%)	Оптична густина (од. опт. густ.)	Питомий об'єм (%)	Оптична густина (од. опт. густ.)
Базальна пластинка	$7 \pm 0,4$ $p_1=0,02$ $p_2<0,001$	$0,184 \pm 0,0026$ $p_1>0,05$ $p_2<0,001$	$10 \pm 0,3$ $p_3<0,001$ $p_4<0,001$	$0,196 \pm 0,0024$ $p_3=0,002$ $p_4>0,05$

Примітка: p_1 – вірогідність різниці двох середніх між фізіологічною вагітністю та досліджуваною групою; p_2 – вірогідність різниці двох середніх між групою плацент зі ЗДАВ та досліджуваною групою; p_3 – вірогідність різниці двох середніх між гострим БД та БД у поєднанні зі ЗДАВ; p_4 – вірогідність різниці двох середніх між гострим БД у поєднанні зі ЗДАВ та зі ЗДАВ без запалення.

Спостерігали незначні, без статистичної розбіжності зростання середніх кількісних показників питомого об'єму та оптичної густини гістохімічного забарвлення колагенових волокон базальної пластинки плаценти при гострому базальному децидуїті порівняно з нормою, при протилежній картині порівняно зі ЗДАВ. При коморбідній ЗДАВ збільшується відсоток питомого об'єму та оптична густина гістохімічного забарвлення колагенових волокон. Порівнюючи спостереження гострого базального децидуїті в поєднанні зі ЗДАВ з спостереженнями ЗДАВ без запалення, тільки для питомого об'єму показники були зі статистично достовірною розбіжністю.

При аналізі мікроскопічних зображень (рис. 6.2) можемо чітко візуалізувати більше виражене гістохімічне забарвлення колагенових волокон базальної пластинки плаценти у спостереженнях з запаленням на тлі залізодефіцитної анемією вагітних, що і підтверджено отриманими результатами.

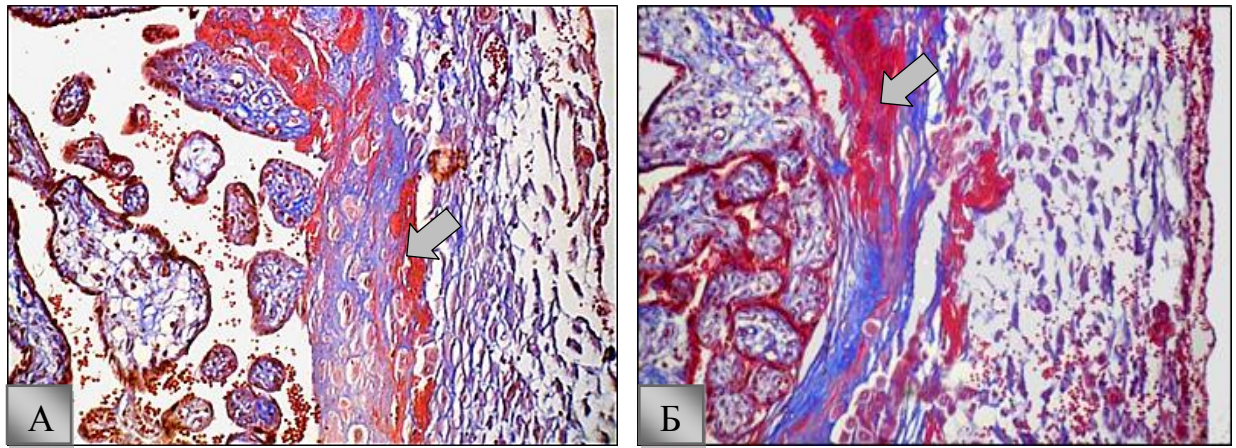


Рисунок 6.2 – Забарвлення колагенових волокон базальної пластинки плаценти. А – гострий базальний децидуїт (↑); Б – гострий базальний децидуїт на тлі ЗДАВ (↑). Забарвлення гістологічних препаратів хромотропом-водним блакитним за Н.З. Слінченко. Збільшення:

Об.40^x.Ок.10^x

Отримані при спектрометричному аналізі (рис. 6.3) середні показники коефіцієнта R/B у структурах базальної пластинки плаценти при гострому базальному децидуїті та в поєднанні зі ЗДАВ наведені в таблиці (табл. 6.2).

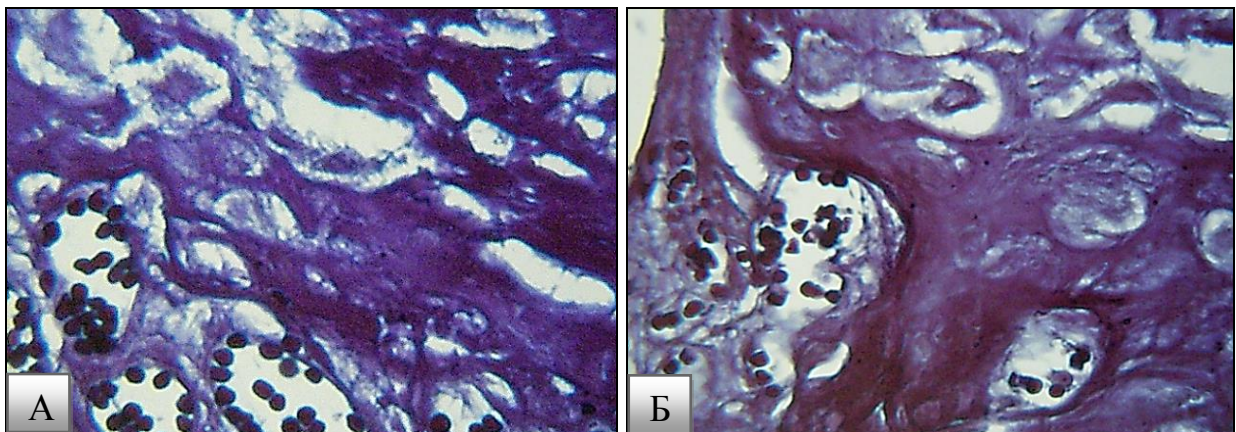


Рисунок 6.3 – Гострий базальний децидуїт. Переважання карбоксильних груп білків над аміногрупами у структурах базальної пластинки плаценти.

А – гострий базальний децидуїт. Б – гострий базальний децидуїт на тлі ЗДАВ. Гістохімічна методика за Mikel Calvo. Збільшення: Об.40^x.Ок.10^x

Таблиця 6.2 – Коефіцієнт R/V в окремих структурах базальної пластинки плаценти при гострому базальному децидуїті на тлі залізодефіцитної анемії вагітних та без неї ($M \pm m$)

Структури плаценти	Спостереження гострого базального децидуїту при вагітності без анемії (n=16)	Спостереження гострого базального децидуїту при залізодефіцитній анемії вагітних (n=15)
Ендотеліоцити базальної пластинки плаценти	$1,84 \pm 0,026$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	$1,88 \pm 0,029$ $p_3 > 0,05$ $p_4 < 0,001$
Фібриноїд базальної пластинки плаценти	$1,44 \pm 0,014$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	$1,46 \pm 0,018$ $p_3 > 0,05$ $p_4 < 0,001$
Децидуоцити базальної пластинки плаценти	$1,38 \pm 0,010$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	$1,42 \pm 0,012$ $p_3 = 0,014$ $p_4 < 0,001$

Примітка: p_1 – вірогідність різниці двох середніх між фізіологічною вагітністю та досліджуваною групою; p_2 – вірогідність різниці двох середніх між групою плацент зі ЗДАВ та досліджуваною групою; p_3 – вірогідність різниці двох середніх між гострим БД та БД у поєднанні зі ЗДАВ; p_4 – вірогідність різниці двох середніх між гострим БД у поєднанні зі ЗДАВ та зі ЗДАВ без запалення.

Із наведених даних видно, що в усіх структурах базальної пластинки плаценти коефіцієнт R/V у середньому значно зростає порівняно з фізіологічною вагітністю та ЗДАВ без запалення. Особливо відчутне зростання коефіцієнта у децидуоцитах та ендотеліоцитах кровоносних судин. При коморбідній ЗДАВ зростали процеси ОМБ тільки у децидуоцитах. Мікрофотографії є відображенням отриманих результатів при забарвленні зрізів плаценти з бромфеноловим синім за Mikel Calvo (рис. 6.3).

Результати вимірювання інтенсивності світіння нітропероксидів в ендотеліоцитах та децидуоцитах базальної пластинки при гострому базальному децидуїті та в поєднанні зі ЗДАВ (рис. 6.4) наведені в таблиці (табл. 6.3).

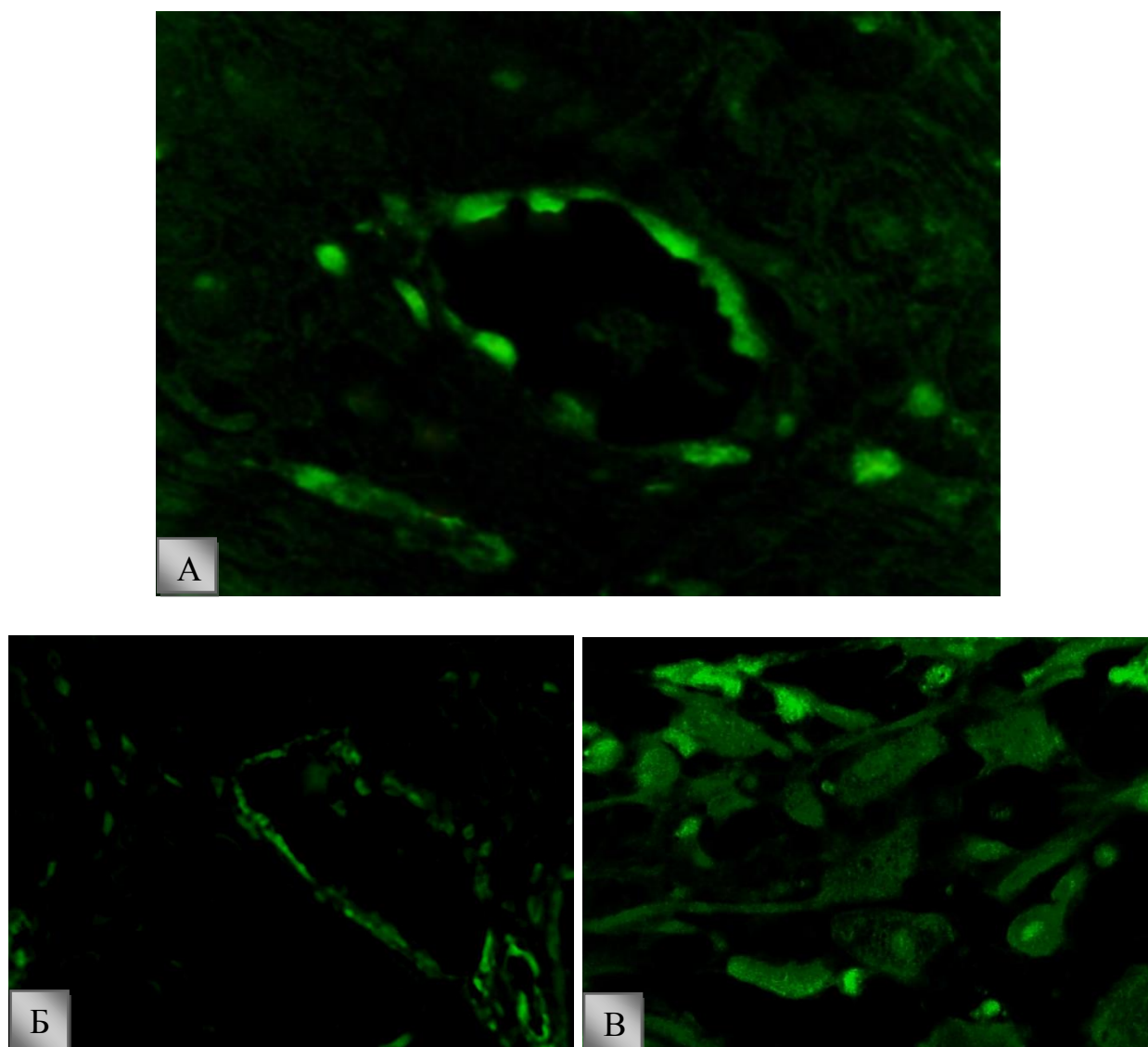


Рисунок 6.4 – Хемілюмінесцентне світіння нітропероксидів у структурах базальної пластинки плацент. А – ендотелій кровоносної судини та децидуоцити при гострому базальному децидуїті. Б – ендотелій кровоносної судини при гострому базальному децидуїті на тлі ЗДАВ. В – децидуоцити при гострому базальному децидуїті на тлі ЗДАВ. Хемілюмінесцентне дослідження з люмінолом. Збільшення: Об.40^x.Ок.10^x

Таблиця 6.3 – Кількісні показники хемілюмінесцентного світіння нітропероксидів у структурах базальної пластинки плаценти при гострому базальному децидуїті на тлі залізодефіцитної анемії вагітних та без неї ($M \pm m$)

Структури плаценти	Спостереження гострого базального децидуїту (n=16)	Спостереження гострого базального децидуїту при ЗДАВ (n=15)
Ендотеліоцити базальної пластинки плаценти	$145 \pm 3,2$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	$149 \pm 3,4$ $p_3 > 0,05$ $p_4 < 0,001$
Децидуоцити базальної пластинки плаценти	$98 \pm 3,8$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	$115 \pm 4,1$ $p_3 = 0,004$ $p_4 < 0,001$

Примітка: p_1 – вірогідність різниці двох середніх між фізіологічною вагітністю та досліджуваною групою; p_2 – вірогідність різниці двох середніх між групою плацент зі ЗДАВ та досліджуваною групою; p_3 – вірогідність різниці двох середніх між гострим БД та БД у поєднанні зі ЗДАВ; p_4 – вірогідність різниці двох середніх між гострим БД у поєднанні зі ЗДАВ та зі ЗДАВ без запалення.

Стає зрозумілим, що при гострому базальному децидуїті з високою вірогідністю в усіх структурах базальної пластинки плаценти відбувалося збільшення інтенсивності хемілюмінесцентного світіння нітропероксидів порівняно з фізіологічною вагітністю та ЗДАВ без запалення. Ці зміни відображені на фотознімках, отриманих при хемілюмінесцентному дослідженні (рис. 6.4). При коморбідній ЗДАВ зростали середні кількісні показники тільки у децидуоцитах.

При кореляційному аналізі закономірності зв'язків за методом Пірсона, між інтенсивністю яскравості нітропероксидів та коефіцієнтом R/V в ендотеліоцитах кровоносних судин базальної пластинки плаценти при гострому базальному децидуїті на тлі ЗДАВ отримали дані про високу статистичну розбіжність, де $r=0,806$ ($p<0,05$), а отже, ймовірно зростання процесів ОМБ, зумовлене високими показниками інтенсивності яскравості нітропероксидів.

Провівши гістохімічну методику, за допомогою нінгідриново-шиффової реакції на вільні аміногрупи білків за методом А. Yasuma та Т. Ichikawa, при гострому базальному децидуїті та у поєднанні із залізодефіцитною анемією вагітних ми спостерігали такі особливості обмеженого протеолізу (табл. 6.4).

Таблиця 6.4 – Визначення вільних аміногруп білків у структурах базальної пластинки плаценти при гострому базальному децидуїті на тлі залізодефіцитної анемії вагітних та без неї ($M \pm m$)

Структури плаценти	Спостереження гострого базального децидуїту (n=16)	Спостереження гострого базального децидуїту при ЗДАВ (n=15)
Ендотеліоцити базальної пластинки плаценти	$0,194 \pm 0,0018$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	$0,220 \pm 0,0020$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,001$
Фібриноїд базальної пластинки плаценти	$0,316 \pm 0,0027$ $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$	$0,320 \pm 0,0031$ $p_3 > 0,05$ $p_4 = 0,01$
Децидуоцити базальної пластинки плаценти	$0,170 \pm 0,0018$ $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,05$	$0,172 \pm 0,0019$ $p_3 > 0,05$ $p_4 > 0,05$

Примітка: p_1 – вірогідність різниці двох середніх між фізіологічною вагітністю та досліджуваною групою; p_2 – вірогідність різниці двох середніх між групою плацент зі ЗДАВ та досліджуваною групою; p_3 – вірогідність різниці двох середніх між гострим БД та БД у поєднанні зі ЗДАВ; p_4 – вірогідність різниці двох середніх між гострим БД у поєднанні зі ЗДАВ та зі ЗДАВ без запалення.

Так, за результатами проведеного нами дослідження встановлено, що згідно з середніми величинами оптична густина гістохімічного забарвлення була статистично вища за показники фізіологічної вагітності в усіх досліджуваних структурах базальної пластинки плаценти, за винятком децидуоцитів. Проте порівняно з групою плацент ЗДАВ без запалення

тільки в ендотеліюцитах показники обмеженого протеолізу статистично значимі ($p < 0,001$).

При залізодефіцитному стан вагітних у спостереженнях гострого базального децидуїту, виникали коливання показників до зростання також тільки в ендотеліюцитах кровоносних судин вищезазначеної локалізації. Ці зміни відображені на рисунках (рис. 6.5).

Ця впорядкованість підтверджується сильними кореляційними зв'язками за методом Пірсона між інтенсивністю яскравості нітропероксидів, де $r = 0,768$ ($p < 0,05$) та процесами ОМБ за коефіцієнтом R/B – $r = 0,696$ ($p < 0,05$).

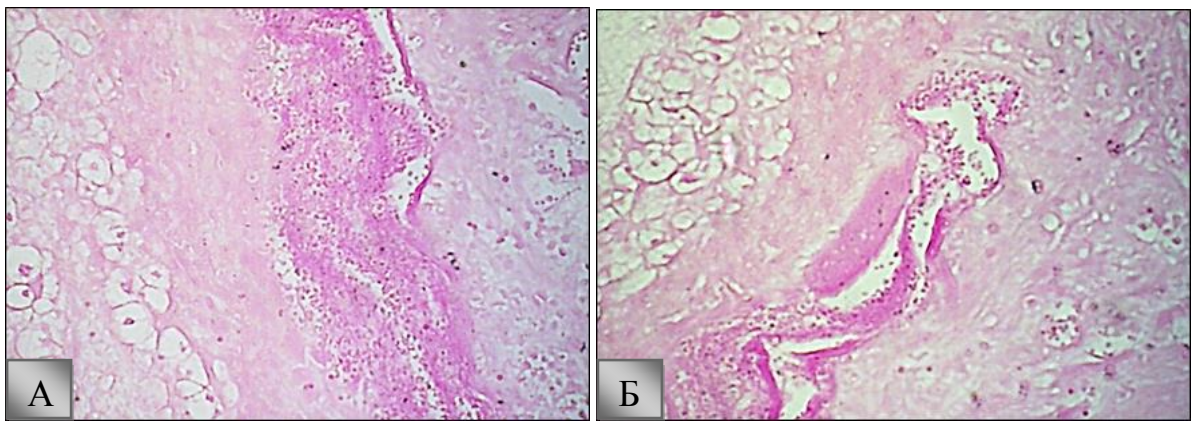


Рисунок 6.5 – Переважання обмеженого протеолізу залежно від інтенсивності забарвлення структур. А – інтенсивність забарвлення в ендотеліюцитах кровоносних судин, фібриноїді та децидуоцитах базальної пластинки плаценти при гострому базальному децидуїті. Б – більш виражена інтенсивність в ендотеліюцитах при гострому базальному децидуїті на тлі ЗДАВ. Збільшення: Об.20^x.Ок.10^x

6.3 Імуногістохімічне дослідження плацент

У таблиці 6.5 продемонстровані встановлені показники оптичної густини забарвлення у структурах базальної пластинки плаценти при застосуванні імуногістохімічної методики із первинними антитілами проти фактору von Willebrand.

Таблиця 6.5 – Показники оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на фактор von Willebrand у структурах базальної пластинки плаценти при гострому базальному децидуїті на тлі залізодефіцитної анемії вагітних та без неї ($M \pm m$)

Структури плаценти	Спостереження гострого базального децидуїту при вагітності без анемії (n=16)	Спостереження гострого базального децидуїту при залізодефіцитній анемії вагітних (n=15)
Ендотеліоцити базальної пластинки плаценти	$0,396 \pm 0,0027$ $p_1 = 0,007$ $p_2 < 0,001$	$0,408 \pm 0,0029$ $p_3 = 0,005$ $p_4 < 0,001$
Фібриноїд базальної пластинки плаценти	$0,146 \pm 0,0024$ $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,001$	$0,170 \pm 0,0029$ $p_3 = 0,001$ $p_2 > 0,05$

Примітка: p_1 – вірогідність різниці двох середніх між фізіологічною вагітністю та досліджуваною групою; p_2 – вірогідність різниці двох середніх між групою плацент зі ЗДАВ та досліджуваною групою; p_3 – вірогідність різниці двох середніх між гострим БД та БД у поєднанні зі ЗДАВ; p_4 – вірогідність різниці двох середніх між гострим БД у поєднанні зі ЗДАВ та зі ЗДАВ без запалення

Лише в ендотеліоцитах базальної пластинки плаценти при гострому базальному децидуїті різко зростали показники оптичної густини забарвлення рівня фактору von Willebrand порівняно з фізіологічною вагітністю. Проте кількісні показники оптичної густини імуногістохімічного забарвлення у фібриноїді ($p < 0,001$), де вони були вищими, та ендотеліоцитах ($p = 0,007$) у середньому статистично більші за показники ЗДАВ без запалення.

У спостереженнях з запаленням на тлі ЗДАВ зростали показники рівня фактору von Willebrand в усіх досліджуваних структурах базальної пластинки плаценти відносно запалення без анемії, фізіологічної вагітності та ЗДАВ без запалення. На отриманих мікроскопічних зображеннях можна провести візуальну оцінку інтенсивності забарвлення фактору von Willebrand у досліджуваних структурах базальної пластинки плаценти (рис. 6.6).

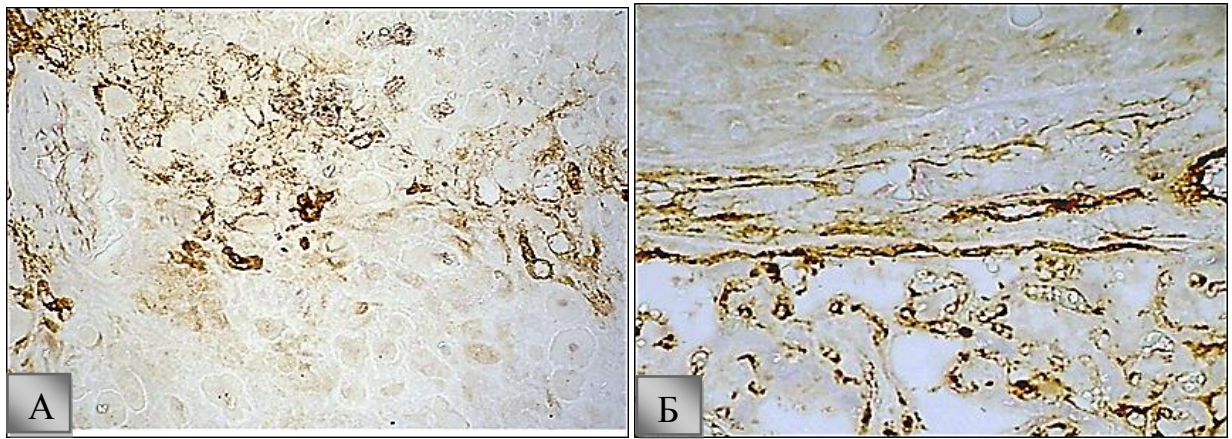


Рисунок 6.6 – Експресія фактору von Willebrand в ендотеліоцитах кровоносної судини та фібриноїді базальної пластинки плаценти. А – спостереження гострого базального децидуїту; Б – спостереження гострого базального децидуїту на тлі ЗДАВ. Імуногістохімічна методика.

Збільшення: Об.20^x.Ок.10^x

Інтенсивність забарвлення на проапоптотичний білок Вах у синцитіотрофобласті хоріальних ворсинок плаценти при гострому БД (рис. 6.7) у середньому становила $0,212 \pm 0,0014$, де $p < 0,001$ порівняно з нормою та ЗДАВ без запалення, а при поєднанні запалення зі ЗДАВ – $0,236 \pm 0,0016$ ($p < 0,001$ з усіма групами порівняння). У децидуоцитах базальної пластинки плаценти при гострому БД (рис. 6.7) мікроденситометричні показники становили $0,125 \pm 0,0013$, де $p > 0,05$, порівняно з фізіологічною вагітністю ($0,121 \pm 0,0012$). При цьому кількісні розрахунки оптичної густини статистично менші ($p < 0,001$) відносно групи дослідження ЗДАВ без запалення ($0,132 \pm 0,0014$).

Що стосується коморбідної ЗДАВ при гострому БД (рис. 6.8), то спостерігали незначну тенденцію до збільшення показників імуногістохімічного забарвлення на протеїн Вах – $0,128 \pm 0,0016$, при цьому не зауважували статистичних розбіжностей у середніх значеннях між плацентами при фізіологічній вагітності, ЗДАВ та запаленні ($p > 0,05$).

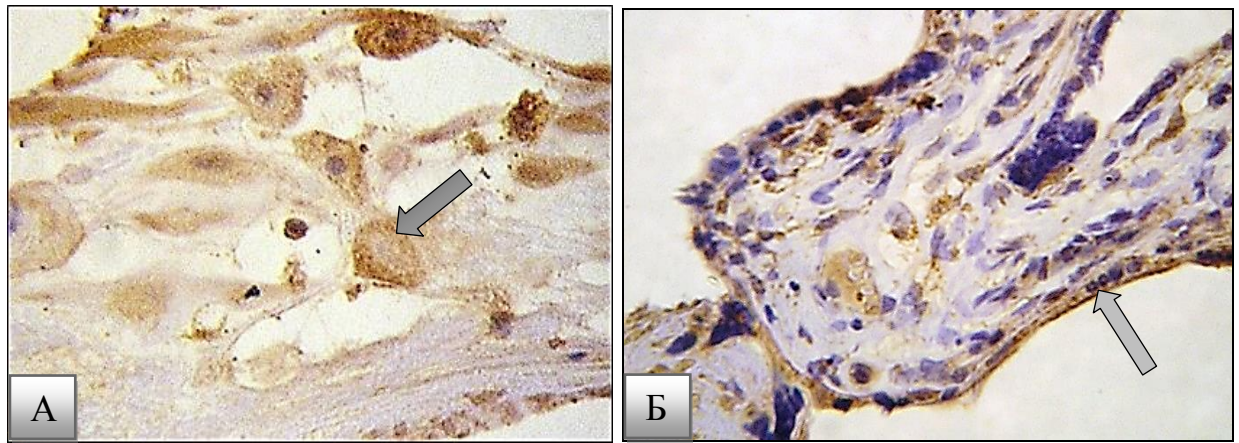


Рисунок 6.7 – Експресія протеїну Вах у децидуоцитах (А) та синцитіотрофобласті (Б) базальної пластинки при гострому базальному децидуїті (↑). Імуногістохімічна методика. Збільшення: Об.40^х.Ок.10^х

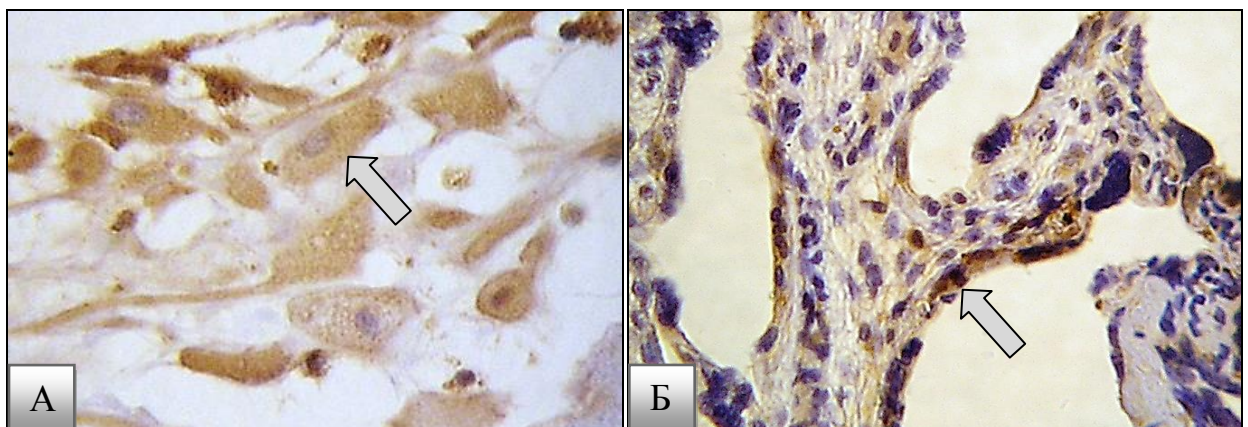


Рисунок 6.8 – Експресія протеїну Вах у децидуоцитах (А) та синцитіотрофобласті (Б) базальної пластинки при гострому базальному децидуїті на тлі ЗДАВ (↑). Імуногістохімічна методика. Збільшення: Об.40^х.Ок.10

Резюме

У групі спостереження плацент із гострим базальним децидуїтом збільшувалася маса, товщина та об'єм плацент, при цьому при коморбідній ЗДАВ знижувалися параметри та наближувалися до показників фізіологічної вагітності.

Результати вимірювання питомого об'єму та оптичної густини гістохімічного забарвлення колагенових волокон, дають підстави стверджувати, що гостре запалення базальної пластинки не призводить до змін в колагенових волокнах, проте при коморбідній ЗДАВ відбувалося збільшення відсотку питомого об'єму та оптичної густини гістохімічного забарвлення.

При вивченні вільнорадикальних процесів привертають увагу факти, які свідчать про певну закономірність явищ. Так, поруч зі збільшенням нітропероксидів у досліджуваних структурах, що підтверджувалося інтенсивною хемілюмінесценцією, при гострому базальному децидуїті зростали і процеси окиснювальної модифікації білків та обмеженого протеолізу, проте останнє не відбувалося тільки у децидуоцитах базальної пластинки плаценти. Це, ймовірно, стає підґрунтям для посиленої експресії в ендотеліоцитах кровоносних судин фактору von Willebrand та підтверджувалося результатами вимірів оптичної густини імуногістохімічного забарвлення. При коморбідній ЗДАВ ці процеси були неоднозначними у досліджуваних структур та характеризувалися зростанням інтенсивності яскравості нітропероксидів та процесів окиснювальної модифікації білків тільки у децидуоцитах, а процесів обмеженого протеолізу – в ендотеліоцитах. Зростання оптичної густини забарвлення на фактор von Willebrand відбувається як в ендотеліоцитах, так і фібриноїді базальної пластинки плаценти.

Імуногістохімічне дослідження на проапоптотичний білок Вах в демонструвало зростання процесів апоптозу у синцитіотрофобласті хоріальних ворсинок плаценти при гострому базальному децидуїті та ще більше при коморбідній залізодефіцитній анемії вагітних. У децидуоцитах реєстрували незначні зростання показників оптичної густини імуногістохімічного як при гострому запаленні базальної пластинки, так і в поєднанні із залізодефіцитною анемією вагітних.

Результати власних досліджень розділу 3 викладені в статтях [55, 56, 57, 58, 60, 61, 69, 171] та апробовані на наукових форумах [51, 52, 53, 54, 59, 62, 64, 65, 66, 67, 68]. Додатково відображені в патенті України на корисну модель [30] та в галузевому нововведенні [31].

РОЗДІЛ 7

МОРФОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ПЛАЦЕНТ ІЗ ХРОНІЧНИМ БАЗАЛЬНИМ ДЕЦИДУЇТОМ ЗА УМОВ ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНОЇ АНЕМІЇ ВАГІТНИХ

У даному розділі нами подана морфологічна характеристика хронічного базального децидуїту при коморбідній ЗДАВ та без неї, з використанням морфометричного, хемілюмінесцентного, гістохімічного, імуногістохімічного методів дослідження для визначення можливого впливу ЗДАВ на перебіг хронічного запалення базальної пластинки плаценти. Зіставленні та проаналізовані отримані результати дослідження з групою плацент гострого базального децидуїту без анемії та у поєднанні зі ЗДАВ. Для дослідження було обрано 21 плаценту із гістологічними ознаками хронічного базального децидуїту та 20 плацент – із хронічним базальним децидуїтом при коморбідній залізодефіцитній анемії вагітних.

7.1 Гістологічне й органометричне дослідження плацент

Плацентарні оболонки при хронічному базальному децидуїті були без видимих патологічних вогнищ. Прикріплення пуповини при запаленні у 4 плацентах з 21 (19 %) ексцентричне, а в поєднанні зі ЗДАВ – у 6 з 20 (30 %), що надавало їм неправильної конфігурації. В усіх інших спостереженнях, прикріплення відбувалося за центральним типом. Материнська поверхня плаценти – з ознаками дисоційованого розвитку котиледонів, що свідчило про відносну варіацію незрілості. Проте на розрізі, крім видимих зон інфарктів (до 20 мм в діаметрі) та осередків кальцинатів (від 5 до 20 мм), базальна пластинка плаценти нерівномірно потовщена й ущільнена, така ж картина спостерігалася і при поєднанні зі ЗДАВ.

Середні органометричні показники в спостереженнях хронічного базального децидуїту на 7 – 10 % більші за показники плацент фізіологічної вагітності в залежності від досліджуваних параметрів. Так маса більша на 7 %

та дорівнювала $486,86 \pm 3,71$ г ($p < 0,001$), товщина на 10 % – $2,81 \pm 0,08$ см ($p < 0,001$), а об'єм плаценти на 7 % – $731,68 \pm 21,08$ см³ ($p < 0,001$). Привернули увагу отримані виміри площі материнської поверхні ($245,43 \pm 2,06$ см²), які при хронічному базальному децидуїті зі статистичною розбіжністю ($p < 0,05$) на 6,5 % були меншими за параметри норми, що не спостерігалось при жодній формі хоріоамніоніту та могло свідчити про ознаки гіпоплазії плаценти.

Середні показники маси новонароджених від вагітностей із морфологічно діагностованим хронічним базальним децидуїтом становили $3050,0 \pm 24$ г, де t-критерій Стюдента порівняно з фізіологічною вагітністю $p < 0,001$, що менше на 10,6 %, а оцінка за шкалою Апгар $7,21 \pm 0,18$ ($p < 0,001$) та менша за норму на 13,3 %.

Спостереження базального децидуїту у вагітних жінок із залізодефіцитною анемією показали зниження усіх параметрів від 6 до 10 %, окрім даних площі материнської поверхні плаценти. При цьому маса плацент даної групи дослідження сягала $455,20 \pm 2,61$ г, що на 6 % менше за показники плацент при хронічному базальному децидуїті ($p < 0,001$), товщина $2,53 \pm 0,10$ см ($p = 0,03$) (менше на 10%), об'єм органа – $673,89 \pm 19,03$ см³, де $p = 0,04$ (менше на 7 %), площа материнської поверхні – $261,5 \pm 2,14$, де за критерієм Стюдента $p < 0,001$ до більших значень і наближена до показників плацент фізіологічної вагітності. Маса новонароджених даної групи спостереження була менша за масу дітей від фізіологічної вагітності на 16,5 % та становила 2850 ± 28 г ($p < 0,001$), а оцінка за шкалою Апгар на 16,6 % – $6,92 \pm 0,21$ ($p < 0,001$). При цьому дані параметри були також нижчими, у середньому, на 5,6 % та 4% відповідно, за показники від пологів з запаленням плаценти без ЗДАВ.

У результаті мікроскопічного дослідження отриманих препаратів при забарвленні гематоксиліном та еозином помітні прояви дифузного хронічного запалення, в базальній пластинці значна кількість плазматичних клітин (рис. 7.1). Типовим для хронічного базального децидуїту було нерівномірне дозрівання ворсин різних ділянок плаценти, зокрема в межах різних котиледонів, що підтверджує ознаки їх дисоційованого розвитку. Окрім цього,

виявлено значно більшу кількість фібриноїду порівняно з групою гострого базального децидуїту, розташованого у вигляді островців, подекуди - смужків, однорідної та інтенсивно забарвленої структури. Фібриноїд локалізувався здебільшого навколо та всередині ворсин, огортав децидуоцити базальної пластинки плаценти.

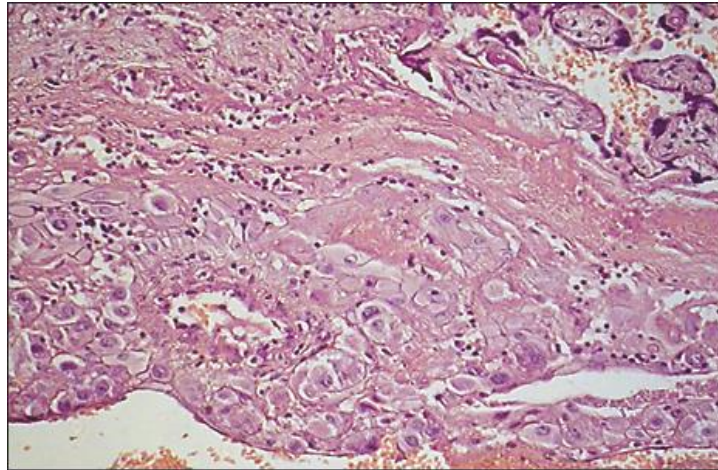


Рисунок 7.1 – Спостереження хронічного базального децидуїту. Стрілкою вказано запальний інфільтрат зі зрілих лімфоцитів, плазматичних клітин і гістіоцитів у базальній пластинці. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення: Об.20^x.Ок.10^x

Крім цього, в плацентах з запаленням у поєднанні зі ЗДАВ наявні місцеві осередки повнокрів'я судин, міжворсинчастий простір розширений із осередками крововиливів, з наявністю в ньому солей вапна, переважно ближче до хоріальної пластинки плаценти. Візуалізувалися також ознаки патологічної незрілості ворсин хоріона, їх склероз і фіброз.

7.2 Гістохімічне та хемілюмінесцентне дослідження плацент

Кількісні показники питомого об'єму та оптичної густини гістохімічного забарвлення колагенових волокон базальної пластинки плаценти при хронічному базальному децидуїті та в поєднанні зі залізодефіцитною анемією вагітних наведені в таблиці (табл. 7.1).

Таблиця 7.1 – Кількісні показники питомого об'єму та оптичної густини гістохімічного забарвлення колагенових волокон базальної пластинки плаценти при хронічному базальному децидуїті на тлі залізодефіцитної анемії вагітних та без неї ($M \pm m$)

Структура плаценти	Спостереження хронічного базального децидуїту при вагітності без анемії (n=21)		Спостереження хронічного базального децидуїту при залізодефіцитній анемії вагітних (n=20)	
	Питомий об'єм (%)	Оптична густина (од. опт. густ.)	Питомий об'єм (%)	Оптична густина (од. опт. густ.)
Базальна пластинка	$13 \pm 0,4$ $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$	$0,197 \pm 0,0024$ $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$	$24 \pm 0,3$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,001$	$0,224 \pm 0,0033$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,001$

Примітка: p_1 – вірогідність різниці двох середніх між фізіологічною вагітністю та досліджуваною групою; p_2 – вірогідність різниці двох середніх між групою плацент зі ЗДАВ та досліджуваною групою; p_3 – вірогідність різниці двох середніх між гострим БД та БД у поєднанні зі ЗДАВ; p_4 – вірогідність різниці двох середніх між гострим БД у поєднанні зі ЗДАВ та зі ЗДАВ без запалення.

Отримані кількісні показники демонструють збільшення питомого об'єму колагенових волокон при хронічному базальному децидуїті порівняно з фізіологічною вагітністю та зростання середніх даних і оптичної густини, що не відбувалося порівняно зі ЗДАВ без запалення. А при запаленні на тлі ЗДАВ ці кількісні показники були вищими, ніж без неї. Відповідні зміни виявлені і порівняно зі ЗДАВ без запалення.

За допомогою рисунка (рис. 7.2) продемонстровано те, як забарвлюються структури базальної пластинки плаценти при забарвленні гістологічних препаратів хромотропом-водним блакитним за Н. З. Слінченко.

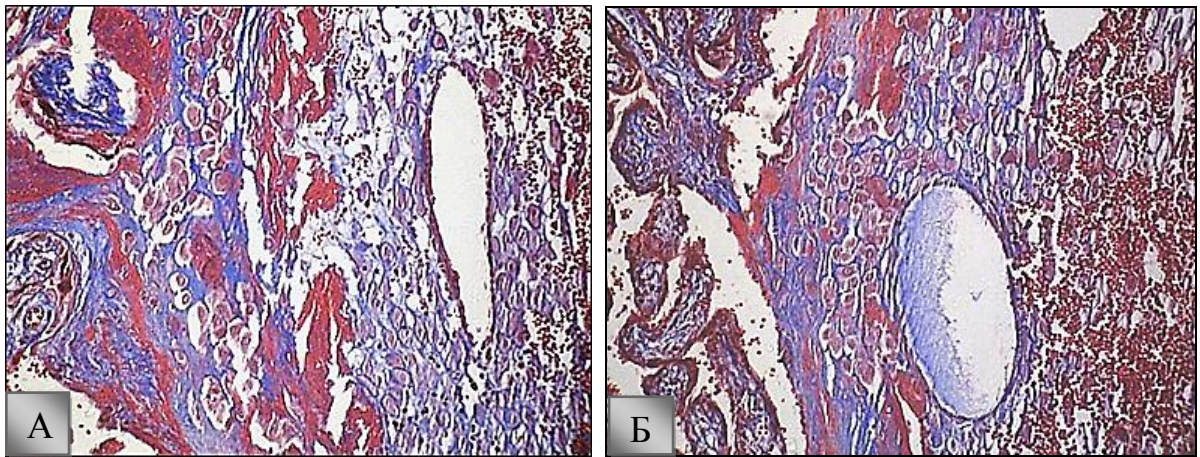


Рисунок 7.2 – Забарвлення колагенових волокон базальної пластинки.
А – хронічний базальний децидуїт; Б – хронічний базальний децидуїт на тлі
ЗДАВ. Забарвлення гістологічних препаратів хромотропом-водним
блакитним за Н.З. Слінченко. Збільшення: Об.40^x.Ок.10^x

Порівняльні дані між гострим і хронічним перебігом базального децидуїту при гістохімічному вивченні колагенових волокон базальної пластинки плаценти наведені на рис. 7.3 та рис. 7.4.

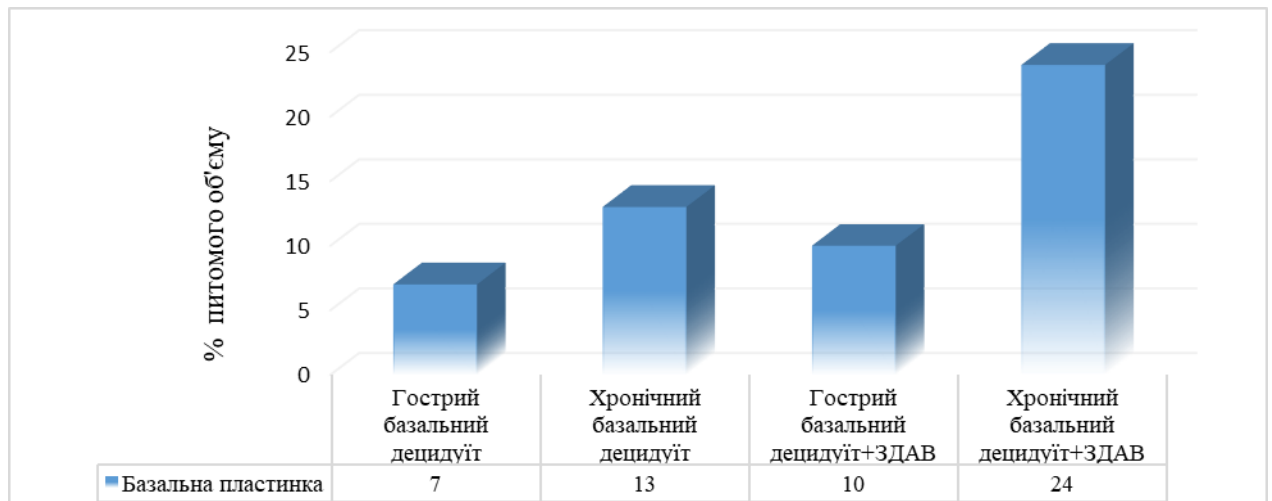


Рисунок 7.3 – Порівняння показників питомого об'єму колагенових волокон базальної пластинки плаценти між гострим і хронічним базальним децидуїтом без анемії та у поєднанні зі ЗДАВ

За допомогою продемонстрованих даних стає зрозумілим, що хронічний процес призводить до збільшення, з високою вірогідністю, відсотка питомого об'єму колагенових волокон базальної пластинки плаценти, де $p < 0,001$. Не винятком стали спостереження плацент з запаленням при коморбідній залізодефіцитній анемії вагітних ($p < 0,001$).

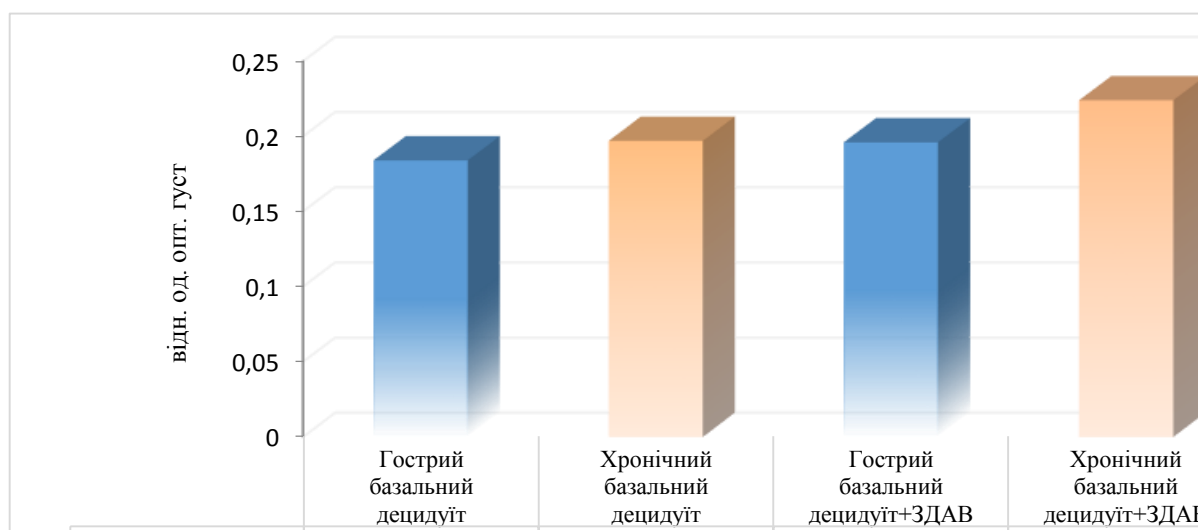


Рисунок 7.4 – Порівняння показників оптичної густини гістохімічного забарвлення колагенових волокон базальної пластинки плаценти між гострим і хронічним базальним децидуїтом без анемії та у поєднанні зі ЗДАВ

Дещо з менше, як це помітно на діаграмі (рис. 7.4), відбувається зростання інтенсивності оптичної густини гістохімічного забарвлення колагенових волокон ($p < 0,001$). У спостереженнях плацент хронічного базального децидуїту у поєднанні зі ЗДАВ показники також більші за гострий.

При вивченні вільнорадикальних процесів ми показали інтенсифікацію процесів ОМБ, що підтверджується високими показниками коефіцієнта R/B, отриманими мікроспектрофотометричним методом при застосуванні гістохімічної методики на «кислі» та «основні» білки з бромфеноловим синім за Mikel Salvo. Отримані під час дослідження розрахунки коефіцієнта R/B наведені в таблиці (табл. 7.2), далі за допомогою мікроскопічних зображень

(рис. 7.5 та 7.6) можна отримати уявлення про те, як забарвлюються за цієї методики структури плаценти при хронічному базальному децидуїті без анемії та на тлі ЗДАВ.

Таблиця 7.2 – Коефіцієнт R/V в окремих структурах базальної пластинки плаценти (гістохімічна методика на «кислі» та «основні» білки з бромфеноловим синім за Mikel Calvo) при хронічному базальному децидуїті на тлі залізодефіцитної анемії вагітних та без неї ($M \pm m$)

Структури плаценти	Спостереження хронічного базального децидуїту при вагітності без анемії (n=21)	Спостереження хронічного базального децидуїту при залізодефіцитній анемії вагітних (n=20)
Ендотеліоцити базальної пластинки плаценти	$1,29 \pm 0,019$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	$1,46 \pm 0,022$ $p_3 = 0,002$ $p_4 < 0,001$
Фібриноїд базальної пластинки плаценти	$2,34 \pm 0,019$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	$2,89 \pm 0,022$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,001$
Децидуоцити базальної пластинки плаценти	$1,89 \pm 0,015$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	$2,14 \pm 0,018$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,001$

Примітка: p_1 – вірогідність різниці двох середніх між фізіологічною вагітністю та досліджуваною групою; p_2 – вірогідність різниці двох середніх між групою плацент зі ЗДАВ та досліджуваною групою; p_3 – вірогідність різниці двох середніх між гострим БД та БД у поєднанні зі ЗДАВ; p_4 – вірогідність різниці двох середніх між гострим БД у поєднанні зі ЗДАВ та зі ЗДАВ без запалення.

Так, в ендотеліоцитах кровоносних судин, фібриноїді та децидуальних клітинах базальної пластинки плаценти різко та з високою статистичною розбіжністю зростав коефіцієнт R/V порівняно з фізіологічною вагітністю та ЗДАВ без запалення. Така ж закономірність спостерігалася у дослідженнях запалення в поєднанні зі ЗДАВ щодо хронічного базального децидуїту без анемії, до фізіологічної вагітності та ЗДАВ без запалення.

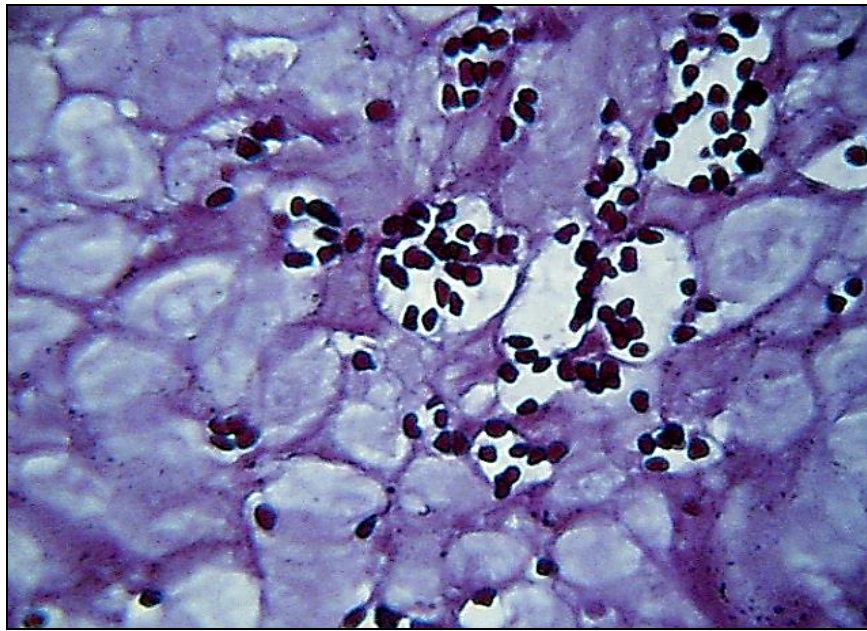


Рисунок 7.5 – Хронічний базальний децидуїт. Зміщення кольору забарвлення у червону частину спектру у децидуоцитах, ендотеліоцитах кровоносних судини та ще більше у фібриноїді, що вказує на зміну в сторону переваги карбоксильних груп над аміногрупами білків.

Гістохімічна методика за Mikel Calvo. Збільшення: Об.40^x.Ок.10^x

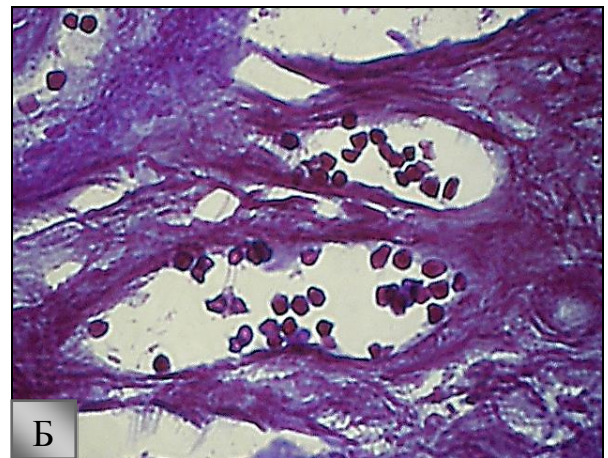


Рисунок 7.6 – Хронічний базальний децидуїт на тлі ЗДАВ. Зміщення кольору забарвлення у червону частину спектру. Переважання карбоксильних груп над аміногрупами білків. А – децидуоцити та фібриноїд. Б – ендотелій кровоносної судини. Гістохімічна методика з бромфеноловим синім за Mikel Calvo. Збільшення: Об.40^x.Ок.10^x

Порівняльна характеристика між гострим і хронічним базальним децидуїтом без анемії та запаленням на тлі ЗДАВ представлена на рисунку 7.7

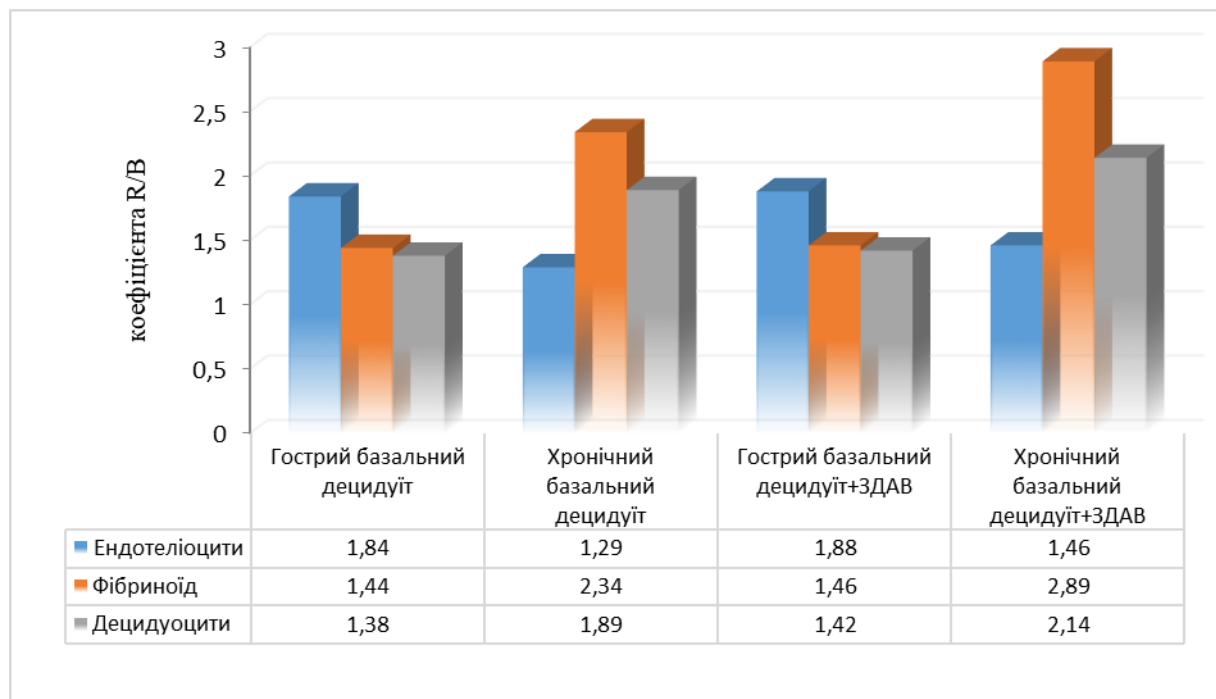


Рисунок 7.7 – Порівняння показників коефіцієнта R/B в ендотеліоцитах, фібриноїді та децидуоцитах базальної пластинки плаценти між гострим та хронічним базальним децидуїтом без анемії та у поєднанні зі ЗДАВ

При порівнянні (рис. 7.7) помітне зростання при хронічному перебігу коефіцієнт R/B у децидуоцитах ($p < 0,001$) та фібриноїді ($p < 0,001$). Винятком стали середні параметри щодо ендотеліоцитів базальної пластинки плаценти, де показники навпаки різко зменшуються при хронічному запаленні ($p < 0,001$). Та ж тенденція характерна в дослідженнях запалення на тлі ЗДАВ.

Результати ступеня ОМБ доповнюються кількісними показниками хемілюмінесцентного світіння нітропероксидів, ініційованих люмінолом, зазначеними в таблиці 7.3 та відображені рис. 7.8 та 7.9.

Таблиця 7.3 – Кількісні показники хемілюмінесцентного світіння нітропероксидів у структурах базальної пластинки плаценти при хронічному базальному децидуїті на тлі залізодефіцитної анемії вагітних та без неї ($M \pm m$)

Структури плаценти	Спостереження хронічного базального децидуїту при вагітності без анемії (n=21)	Спостереження хронічного базального децидуїту при залізодефіцитній анемії вагітних (n=20)
Ендотеліоцити базальної пластинки плаценти	$93 \pm 4,1$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	$115 \pm 4,4$ $P_3 < 0,001$ $P_4 < 0,001$
Децидуоцити базальної пластинки плаценти	$130 \pm 4,4$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	$164 \pm 4,5$ $p_3 = 0,002$ $p_4 < 0,001$

Примітка: p_1 – вірогідність різниці двох середніх між фізіологічною вагітністю та досліджуваною групою; p_2 – вірогідність різниці двох середніх між групою плацент зі ЗДАВ та досліджуваною групою; p_3 – вірогідність різниці двох середніх між гострим БД та БД у поєднанні зі ЗДАВ; p_4 – вірогідність різниці двох середніх між гострим БД у поєднанні зі ЗДАВ та зі ЗДАВ без запалення.

При хронічному базальному децидуїті рівень нітропероксидів був вищим за показники відносної норми та ЗДАВ без запалення в усіх досліджуваних структурах базальної пластинки плаценти та ще інтенсивніше – при поєднанні запалення зі ЗДАВ.

Причинно-наслідковий зв'язок між рівнем нітропероксидів та процесами ОМБ в групі спостереження запалення з коморбідною ЗДАВ підтверджуються сильною кореляцією в ендотеліоцитах базальної пластинки плаценти при проведенні аналізу за методом Пірсона, де $r = 0,816$ ($p < 0,05$).

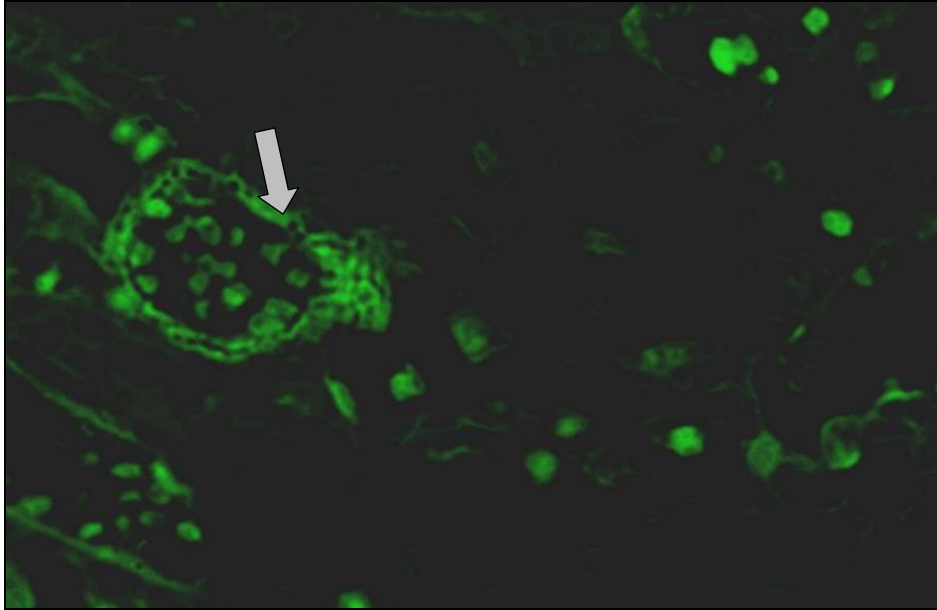


Рисунок 7.8 – Хемілюмінесцентне світіння нітропероксидів при хронічному базальному децидуїті у структурах базальної пластинки плаценти (↑).
Хемілюмінесцентне дослідження з люмінолом. Збільшення: Об.40^x.Ок.10^x

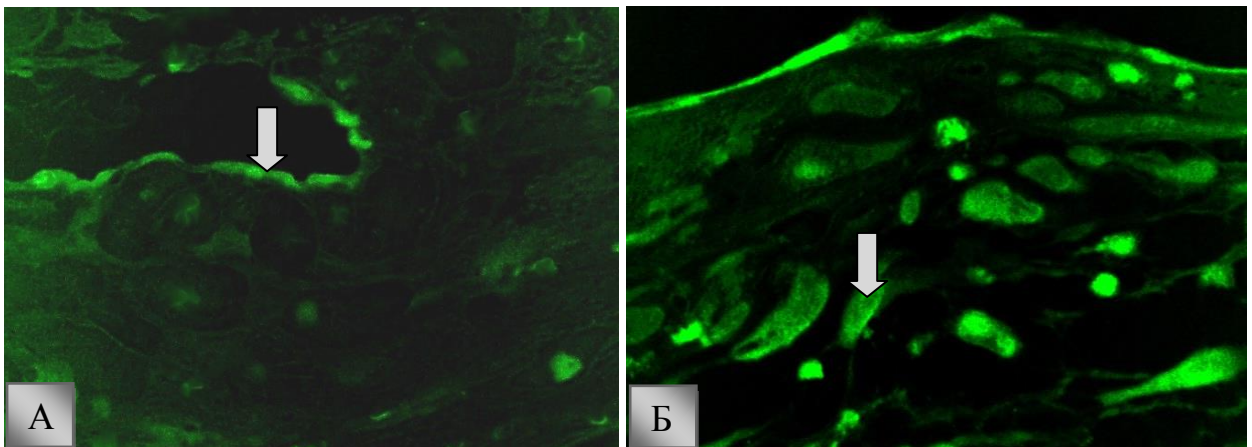


Рисунок 7.9 – Хемілюмінесцентне світіння нітропероксидів при хронічному базальному децидуїті на тлі ЗДАВ. А – ендотеліюцити кровоносної судини (↑). Б – децидуоцити базальної пластинки (↑). Хемілюмінесцентне дослідження з люмінолом. Збільшення: Об.40^x.Ок.10^x

Далі ми наводимо порівняльну характеристику між спостереженнями плацент із гострим і хронічним базальним децидуїтом без та в поєднанні зі ЗДАВ (рис. 7.10).

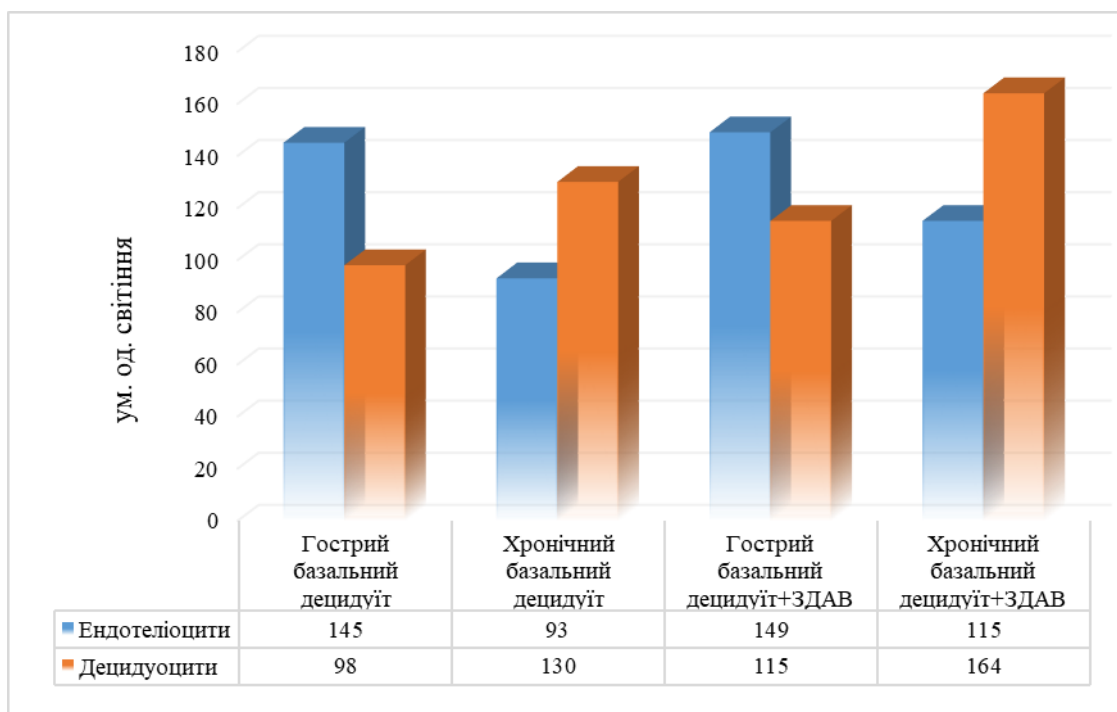


Рисунок 7.10 – Порівняння показників інтенсивності яскравості нітропероксидів в ендотеліоцитах та децидуоцитах базальної пластинки плаценти між гострим і хронічним базальним децидуїтом без анемії та в поєднанні зі ЗДАВ

Стає зрозумілим, що при гострому БД та у поєднанні зі ЗДАВ найвищі показники рівня нітропероксидів реєструвалися в ендотеліоцитах кровоносних судин, а при хронічному та поєднаній анемії ці зміни стосувалися децидуоцитів.

Отримано дані про зростання кількісних показників оптичної густини гістохімічного забарвлення на виявлення NH_2 групи білків, висвітлених в таблиці (табл. 7.4), та підтверджує твердження про те, що процеси ОМБ посилюють обмежений протеоліз.

Таблиця 7.4 – Визначення вільних аміногруп білків у структурах базальної пластинки плаценти при хронічному базальному децидуїті на тлі залізодефіцитної анемії вагітних та без неї ($M \pm m$)

Структури плаценти	Спостереження хронічного базального децидуїту при вагітності без анемії (n=21)	Спостереження хронічного базального децидуїту при залізодефіцитній анемії вагітних (n=20)
Ендотеліоцити базальної пластинки плаценти	$0,192 \pm 0,0014$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	$0,221 \pm 0,0021$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,001$
Фібриноїд базальної пластинки плаценти	$0,326 \pm 0,0034$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	$0,341 \pm 0,0038$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,001$
Децидуоцити базальної пластинки плаценти	$0,182 \pm 0,0021$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	$0,196 \pm 0,0024$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,001$

Примітка: p_1 – вірогідність різниці двох середніх між фізіологічною вагітністю та досліджуваною групою; p_2 – вірогідність різниці двох середніх між групою плацент зі ЗДАВ та досліджуваною групою; p_3 – вірогідність різниці двох середніх між гострим БД та БД у поєднанні зі ЗДАВ; p_4 – вірогідність різниці двох середніх між гострим БД у поєднанні зі ЗДАВ та зі ЗДАВ без запалення.

Дані таблиці переконливо свідчать, що при хронічному базальному децидуїті показники обмеженого протеолізу були вищими за показники норми та ЗДАВ без запалення в усіх досліджуваних структурах. При коморбідній ЗДАВ підвищувалися, з високою статистично достовірною розбіжністю, кількісні параметри оптичної густини гістохімічного забарвлення при хронічному базальному децидуїті, така ж тенденція спостерігалася порівняно з фізіологічною вагітністю та ЗДАВ без запалення. Як і при хронічному запаленні хоріальної пластинки плаценти, привертала увагу у багатьох зрізах наявність у просвіті судин структур, подібних до тромбу (рис. 7.11). Після спеціального забарвлення цих зрізів методом за Н. З. Слінченко, який здатний специфічно виявляти фібрин, ми можемо вважати, що ці утворення і є тромбами.

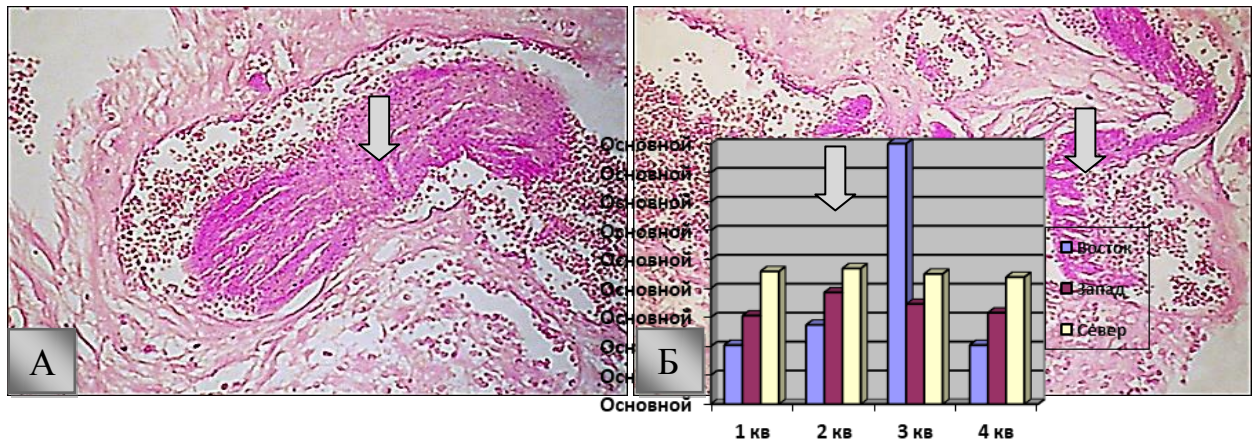


Рисунок 7.11 – Інтенсивність гістохімічного забарвлення на вільні NH_2 групи білків в ендотеліюцитах кровоносної судини, децидуоцитах та фібриноїді.

А – хронічний базальний децидуїт. Б – хронічний базальний децидуїт на тлі ЗДАВ. Стрілками вказано тромби у просвіті судини. Нінгідриново-шиффовська реакція за методом А. Yasuma та Т. Ichikava. Збільшення:

$$\text{Об.}40^{\times}.\text{Ок.}10^{\times}$$

Порівняльні дані щодо обмеженого протеолізу між спостереженнями гострого та хронічного базального децидуїту та на тлі ЗДАВ наведені на рис. 7.12.



Рисунок 7.12 – Порівняння показників оптичної густини гістохімічного забарвлення на вільні аміногрупи білків в ендотеліюцитах, фібриноїді та децидуоцитах базальної пластинки плаценти між гострим і хронічним базальним децидуїтом без анемії та в поєднанні зі ЗДАВ

Так, при гострому та хронічному перебігах базального децидуїту в ендотеліюцитах базальної пластинки плаценти не спостерігалось статистично значущих розбіжностей у середніх значеннях між групами дослідження, як при базальному децидуїті зі ЗДАВ та без неї. Проте у фібриноїді при запаленні без анемії при хронічній формі показники у середньому статистично вищі за показники гострого ($p=0,03$), дещо з більшою вірогідністю вони також підвищувалися при коморбідній ЗДАВ ($p<0,001$). У децидуальних клітинах базальної пластинки плаценти кількісні параметри обмеженого протеолізу переважали при хронічному перебігу. Це стосується як дослідження запалення у поєднанні зі ЗДАВ ($p<0,001$), так і без неї ($p<0,001$).

Дотримуючись обраного нами алгоритму дій, здійснено кореляційний аналіз за методом Пірсона між інтенсивністю яскравості нітропероксидів і процесами обмеженого протеолізу в ендотеліюцитах кровоносних судин. Так, за показниками оптичної густини гістохімічного забарвлення $r=0,681$ ($p<0,05$), а кореляційний зв'язок обмеженого протеолізу з процесами ОМБ зі статистичною вірогідністю ($p<0,05$) становив $r=0,684$.

7.3 Імуногістохімічне дослідження плацент

Результати оптичної густини імуногістохімічного забарвлення (рис. 7.13 та 7.14) на фактор von Willebrand наведені в таблиці (табл. 7.5).



Рисунок 7.13 – Експресія фактору von Willebrand у структурах базальної пластинки при хронічному базальному децидуїті. Імуногістохімічна методика. Збільшення: Об.20^x.Ок.10^x

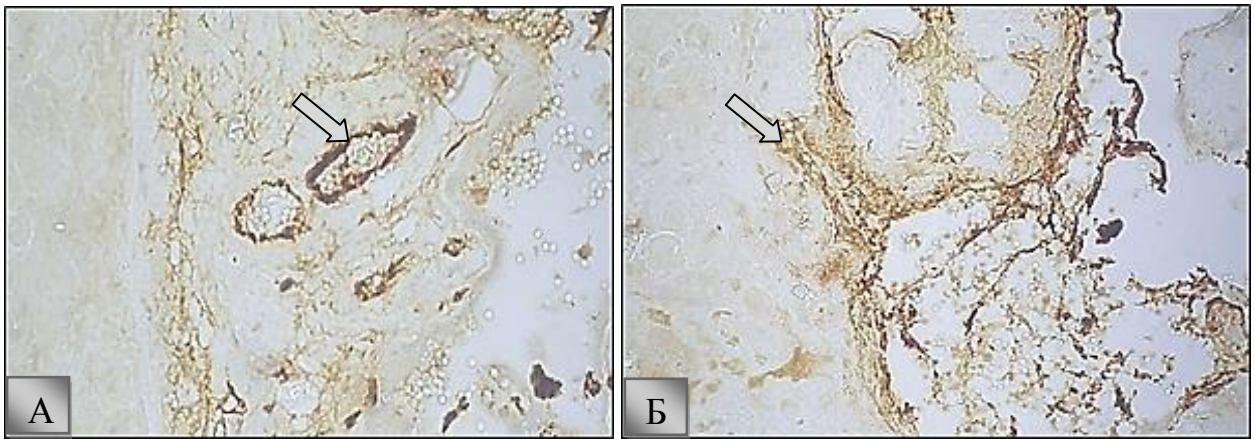


Рисунок 7.14 – Експресія фактору von Willebrand при хронічному базальному децидуїт на тлі ЗДАВ. А – ендотеліоцити кровоносної судини ($\uparrow$). Б – фібриноїд ($\uparrow$). Імуногістохімічна методика. Збільшення: Об.40^x.Ок.10^x

Таблиця 7.5 – Показники оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на фактор von Willebrand у структурах базальної пластинки плаценти при хронічному базальному децидуїті на тлі залізодефіцитної анемії вагітних та без неї ($M \pm m$)

Структури плаценти	Спостереження хронічного базального децидуїту при вагітності без анемії(n=21)	Спостереження хронічного базального децидуїту при залізодефіцитній анемії вагітних(n=20)
Ендотеліоцити базальної пластинки плаценти	$0,398 \pm 0,0029$ $p_1 < 0,001$ $p_2 = 0,002$	$0,416 \pm 0,0032$ $p_3 = 0,005$ $p_4 < 0,001$
Фібриноїд базальної пластинки плаценти	$0,170 \pm 0,0033$ $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$	$0,181 \pm 0,0034$ $p_3 = 0,03$ $p_4 = 0,002$

Примітка: p_1 – вірогідність різниці двох середніх між фізіологічною вагітністю та досліджуваною групою; p_2 – вірогідність різниці двох середніх між групою плацент зі ЗДАВ та досліджуваною групою; p_3 – вірогідність різниці двох середніх між гострим БД та БД у поєднанні зі ЗДАВ; p_4 – вірогідність різниці двох середніх між гострим БД у поєднанні зі ЗДАВ та зі ЗДАВ без запалення.

Так, при хронічному перебігу базального децидуїту з високою статистичною вірогідністю зростали в ендотеліоцитах та фібриноїді базальної пластинки плаценти показники оптичної густини імуногістохімічного забарвлення (див. рис. 7.13). Проте порівняно зі ЗДАВ без запалення тільки в ендотеліоцитах показники були статистично вищими, де $p=0,002$.

Поєднання запалення посліду зі ЗДАВ (див. рис. 7.14) дало статистично значуще підвищення кількісних даних оптичної густини порівняно з запаленням без анемії, з фізіологічною нормою та ЗДАВ без запалення.

Порівняння досліджень гострого та хронічного базального децидуїту в поєднанні зі ЗДАВ та без неї продемонстровано за допомогою рисунка (рис. 7.15).

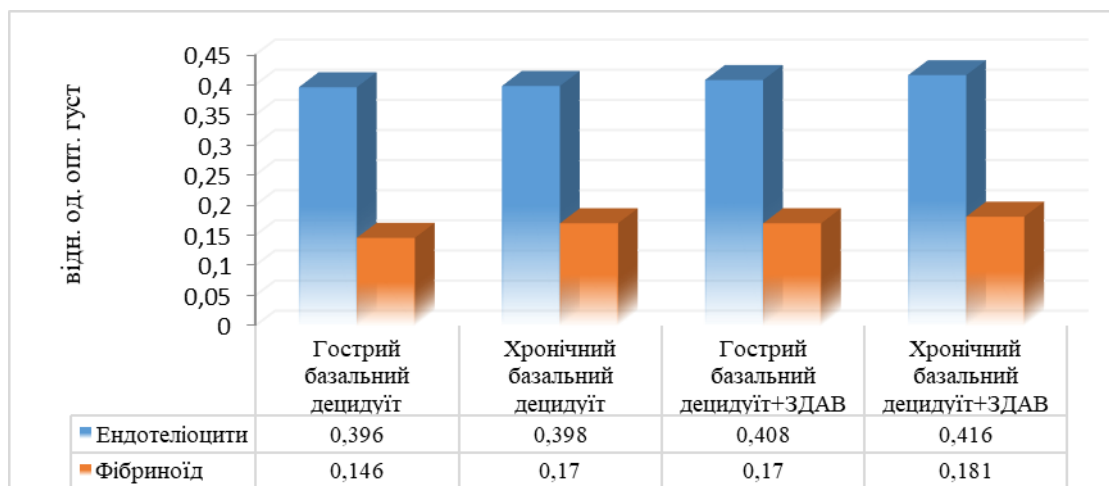


Рисунок 7.15 – Порівняння показників оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на фактор von Willebrand ендотеліоцитах та фібриноїді базальної пластинки плаценти між гострим і хронічним базальним децидуїтом без анемії та в поєднанні зі ЗДАВ

Аналізуючи діаграму, ми помітили, що в ендотеліоцитах показники оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на фактор von Willebrand не дали статистичних змін між гострою і хронічною формами базального децидуїту ($p>0,05$), проте ЗДАВ значно впливала на підвищення рівня

фактору von Willebrand в ендотеліоцитах кровоносних судин при хронічному перебігу ($p < 0,001$). А у фібриноїді при хронічному запаленні, з високою вірогідністю підвищуються параметри як при коморбідній ЗДАВ ($p = 0,02$), так і без неї ($p < 0,001$).

При вивченні проапоптотичного білка Вах методом комп'ютерної мікроденситометрії (рис. 7.16 та 7.17) при хронічному базальному децидуїті у синцитіотрофобласті хоріальних ворсинок плаценти оптична густина імуногістохімічного забарвлення дорівнювала $0,224 \pm 0,0016$, а при поєднанні зі ЗДАВ – $0,249 \pm 0,0015$ відн. од. опт. густ.; у децидуоцитах базальної пластинки при запаленні – $0,241 \pm 0,0014$, а в поєднанні зі ЗДАВ – $0,254 \pm 0,0016$. З отриманих даних стає відомо, що хронічне запалення призводить до збільшення з високою вірогідністю, кількісних показників як у синцитіотрофобласті хоріальних пластинок плаценти порівняно з плацентами фізіологічної вагітності та ЗДАВ без запалення, так і в децидуоцитах базальної пластинки плаценти, де $p < 0,001$ в усіх спостереженнях. При коморбідній ЗДАВ різко підвищувалися середні дані порівняно зі спостереженнями плацент із базальним децидуїтом без ЗДАВ ($p < 0,001$), фізіологічної вагітності та ЗДАВ без запалення ($p < 0,001$).

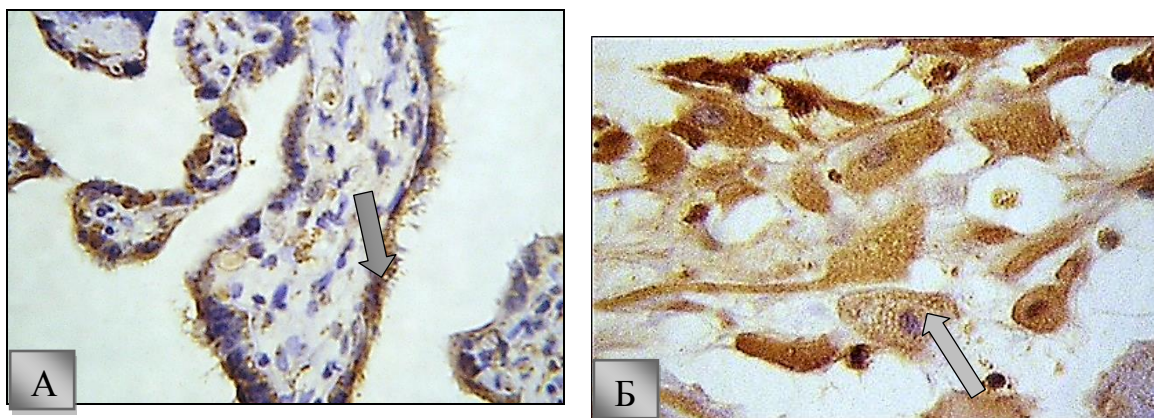


Рисунок 7.16 – Експресія проапоптотичного протеїну Вах при хронічному базальному децидуїті. А – синцитіотрофобласт хоріальних ворсинок (↑). Б – децидуоцити базальної пластинки (↑). Імуногістохімічна методика. Збільшення: Об.40^x.Ок.10^x

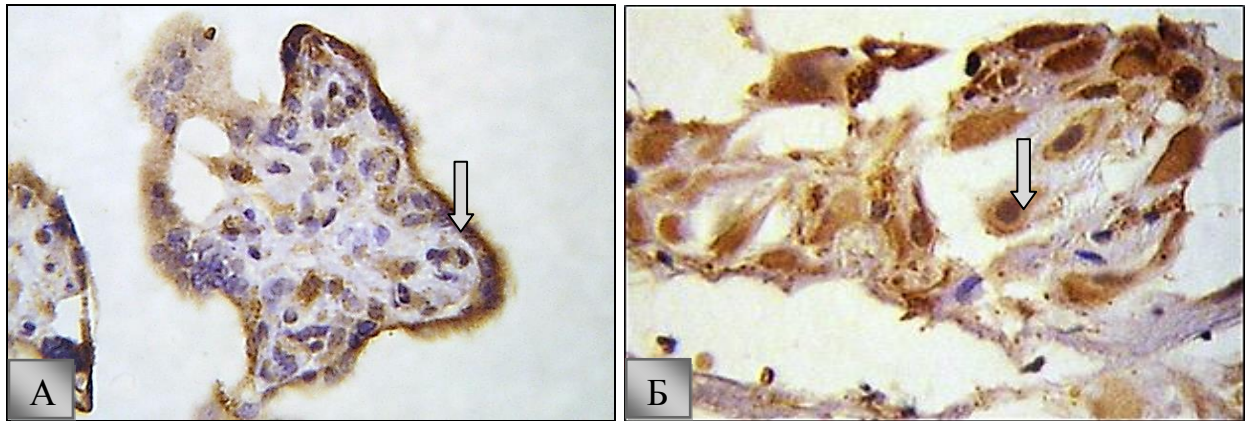


Рисунок 7.17 – Експресія проапоптотичного протеїну Вах при хронічному базальному децидуїті на тлі ЗДАВ. А – синцитіотрофобласт хоріальних ворсинок (↑); Б – децидуоцити базальної пластинки (↑). Імуногістохімічна методика. Збільшення: Об.40^x.Ок.10^x

Порівняльні дані оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на протеїн Вах у децидуоцитах базальної пластинки плаценти між гострим і хронічним базальним децидуїтом наведені за допомогою діаграми (рис. 7.18).

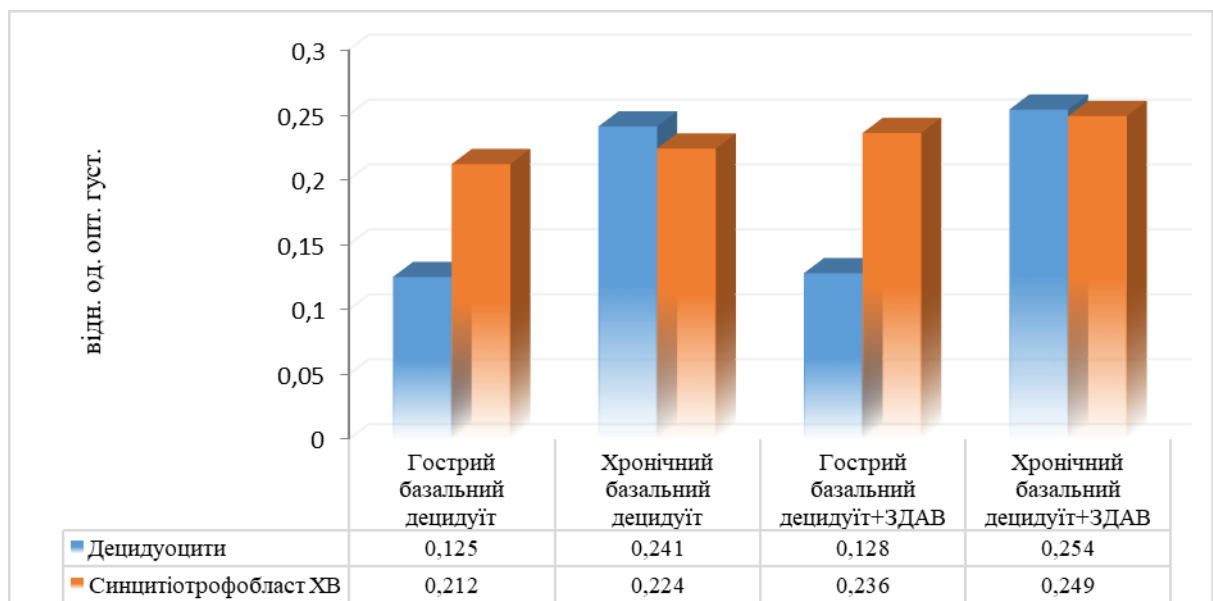


Рисунок 7.18 – Порівняльні показники проапоптотичного білка Вах у децидуоцитах базальної пластинки плаценти між гострим і хронічним базальним децидуїтом без анемії та у поєднанні зі ЗДАВ

З діаграми помітно, що при хронічному запаленні у середньому зростає апоптотична активність у синцитіотрофобласті хоріальних ворсинок плаценти та децидуоцитах базальної пластинки порівняно з гострим запаленням, а залізодефіцит, додатково, підвищує ці процеси в досліджуваних структурах.

Резюме

Отже, плаценти з ознаками хронічного запалення базальної пластинки плаценти та при коморбідній ЗДАВ мали певні морфологічні особливості. Зокрема, при хронічному базальному децидуїті збільшувалася маса, товщина та об'єм органа при відносній тенденції до зменшення площі, що може свідчити про ознаки гіпоплазії плаценти. При коморбідній ЗДАВ реєструвалось зменшення параметрів порівняно з запаленням без наявної анемії. Відбувалися зміни в стромальному компоненті, які проявлялися у зростанні відсотка питомого об'єму та оптичної густини гістохімічного забарвлення колагенових волокон при запаленні та ще більше – при коморбідній ЗДАВ. Отримані дані про різку інтенсифікацію вільнорадикальних процесів як при хронічному БД, так і в поєднанні зі ЗДАВ. Зокрема, очевидне зростання процесів ОМБ, за показниками коефіцієнта R/V, в ендотеліоцитах кровоносних судин, фібриноїді та децидуоцитах при хронічному базальному децидуїті доповнювалося високим рівнем інтенсивності хемілюмінесцентного світіння нітропероксидів. З тією ж закономірністю зростали і процеси обмеженого протеолізу, різко підвищувалася екскреція фактору von Willebrand та посилювалися процеси апоптозу, що підтверджується високими показниками оптичної густини гістохімічного забарвлення. При цьому коморбідна ЗДАВ посилювала ці процеси в досліджуваних структурах плаценти.

Результати власних досліджень розділу 3 викладені в статтях [55, 56, 57, 58, 60, 61, 69, 171] та апробовані на наукових форумах [51, 52, 53, 54, 59, 62, 64, 65, 66, 67, 68]. Додатково відображені в патенті України на корисну модель [30] та в галузевому нововведенні [31].

РОЗДІЛ 8

АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Вивчення запальних процесів у плаценті від породіль, у яких під час вагітності діагностовано залізодефіцитну анемію, має бути комплексним і обов'язково включати аналіз структурних змін завдяки застосуванню органометричних, сучасних гістохімічних, імуногістохімічних, хемілюмінесцентних, морфометричних, а також статистичних методів дослідження.

Метою і завданнями наших досліджень було вивчення впливу ЗДАВ на органометричні параметри при гострому та хронічному ХА, а також базальному децидуїті, гістохімічне вивчення стану сполучної тканини хоріальної та базальної пластинок плаценти, процесів окиснювальної модифікації білків та обмеженого протеолізу, хемілюмінесцентне дослідження нітропероксидів, імуногістохімічне вивчення процесів апоптозу та фактору von Willebrand при запаленні плаценти за умов ЗДАВ. За допомогою проведених досліджень вдасться удосконалити патоморфологічну діагностику хоріоамніоніту та базального децидуїту при коморбідній ЗДАВ.

Для досягнення поставленої мети і вирішення завдань дисертаційної роботи нами було досліджено 198 плацент із гострим та хронічним хоріоамніонітом, а також базальним децидуїтом за умов ЗДАВ та без неї, від породіль у терміні гестації 37 – 40 тижнів. Зокрема, з метою порівняння, вивчено плаценти фізіологічної вагітності та залізодефіцитної анемії вагітних без запалення. Матеріал отримано під час морфологічних досліджень, які проводилися на базі дитячого відділення Чернівецької ОКУ «Патологоанатомічного бюро» з 2014 по 2018 рр. Згідно з даними морфометричного та гістологічного обстежень встановлювалися чи спростовувалися діагнози хоріоамніоніт та базальний децидуїт. Відбір плацент від породіль із залізодефіцитною анемією проводився на підставі

аналізу карт вагітних (лабораторні показники загального та біохімічного аналізу крові: $Hb < 110$ г/л, кількість еритроцитів $< 3,7$ млн на 1 мкл, кольоровий показник, гематокрит та рівень сироваткового заліза нижче, ніж $10,0$ мкмоль/л) та направлень на гістологічне дослідження плацент. Досліджувану групу склали плаценти від жінок, яким під час вагітності проводилося однакове лікування залізодефіцитної анемії, ступінь якої коливався в межах I – II.

При дослідженні запалення плаценти на тлі ЗДАВ та без неї зміни виявлені на усіх ланках спостережень, насамперед органному. Так, вивчення органогенезу посліду, в ракурсі нашої мети дослідження, яке передбачало визначення основних органометричних параметрів плаценти (маси плаценти, середньої арифметичної товщини, об'єму органа та площі материнської поверхні) продемонструвало цілком нові, раніше не досліджувані уявлення про стан плаценти при поєднанні запалення хоріальної та базальної пластинок плаценти при коморбідній ЗДАВ.

З приводу органометричних показників при ЗДАВ в літературі існує багато суперечливих даних щодо вищевказаних параметрів плаценти. Особливо це стосується показників маси плаценти [40, 41, 46, 76, 127]. Ця розбіжність може бути зумовлена багатьма факторами. Зокрема, перебудова плаценти тісно залежить від того, на якому терміні гестації виникла ЗДАВ та від її ступеня, а також може бути пов'язана з вираженістю плацентарної недостатності, яка розвивається у відповідь на гіпоксію та супроводжується порушенням матково-плацентарного та плодово-плацентарного кровообігу [105, 209] з наступними за цим інволютивно-дистрофічними змінами ворсин хоріона, які поєднуються з клітинними та тканинними компенсаторно-приспосувальними реакціями плаценти [5, 20].

На думку І. С. Давиденка [41, 34], у жінок зі ЗДАВ I – II ст. затримується ріст плаценти у товщину, але інтенсифікується у площині найбільшого перетину органа. Це пояснюється тим, що плацента, припиняючи рости в товщину, утворює економнішу структуру з позицій

енерговитрат клітин та в такий спосіб пристосовується до тривалого впливу негативного фактору. Збільшення площі найбільшого перетину, на його думку, є механізмом компенсації, адже при потоншенні плаценти необхідний для забезпечення функції цього органа масив його клітин (об'єм органа) можна забезпечити ростом плаценти площею матки.

N.A. Alwan, H. Namany [127] стверджують, що зі ЗДАВ пов'язане збільшення ваги плаценти та зменшення співвідношення до ваги плода. Взаємозв'язок між залізодефіцитом матері з розміром плаценти та вагою народжених дітей існує в межах нормального діапазону для цих процесів і не обмежується лише значною анемією матері. Це збільшення ваги плаценти трактується як компенсаторна гіпертрофія плаценти.

Під час наших досліджень до уваги бралися спостереження плацент від жінок, у яких при вагітності діагностували I – II ст. залізодефіцитної анемії без урахування часу її виникнення. При цьому ступінь анемії у однієї тієї ж жінки міг варіювати при вагітності від моменту її виникнення, через медикаментозне лікування залізовмісними препаратами. Все це могло вплинути на отримані органометричні показники плацент та цим відрізнитися від отриманих результатів інших науковців.

Наші дані демонструють, що при ЗДАВ, у середньому, не змінюється товщина плаценти ($2,46 \pm 0,05$ см, при контрольних показниках $2,56 \pm 0,08$ см, $p > 0,05$), хоча відбувається зменшення її маси ($409,14 \pm 6,02$ г, контроль – $454,5 \pm 5,58$ г ($p < 0,001$) та площі материнської перетину ($231,09 \pm 3,54$ см², контроль – $262,73 \pm 7,95$ см² ($p < 0,001$)). Слушними є твердження M. Lelic et al [190] про те, що гіпоксія, залежно від тривалості, насамперед призводить до гіпертрофії, а зі збільшенням терміну вагітності зміни впливають на обмеження зростання плаценти та розвиток невеликої гіпотрофії. Доповнюють ці факти отримані нами середні показники щодо зменшення об'єму плаценти – $572,23 \pm 16,83$ см³, при контролі $685,9 \pm 38,66$ см³, де $p = 0,01$.

Зменшення параметрів площі найбільшого перетину можна аргументувати впливом хронічної гіпоксії на гестаційну перебудову

плаценти. А відсутність особливих коливань показників товщини плаценти при ЗДАВ, на нашу думку, зумовлена напластуванням один на одного двох, обернено пропорційних процесів. Так, з одного боку, на початкових етапах ЗДАВ плацента реагує адаптацією до впливу хронічної гіпоксії через збільшення кількості термінальних ворсин і синцитіальних бруньок, поряд із незрілістю ворсин хоріона, що власне і було діагностовано нами при гістологічному дослідженні та узгоджується з результатами інших дослідників [41]. Оскільки при анемії у матері з різко вираженою гіпоксією та зменшенням площі плаценти, плід починає відчувати кисневе голодування, плацента компенсаторно інтенсифікує свій ріст у товщину, щоб, збільшивши газообмінну площу, допомогти плоду. А оскільки зміни в плаценті, у відповідь на розвиток гіпоксії в системі мати-плід, мають характер нестійкої рівноваги між процесами адаптації та дезадаптації, морфологічні зміни в ній рано чи пізно завершуються хронічною плацентарною недостатністю [5, 46, 122], це призведе до склеротичних змін, посиленого відкладання фібриноїду в плаценті, появи склерозно та фіброзно змінених ворсин, що в цілому буде викликати ущільнення тканин плаценти, зумовлюючи так звану ретракцію і, як наслідок, може виникати атрофія на початкове збільшення товщини плаценти. Ці процеси, ймовірно, зумовлюють отримані нами дані про те, що товщина плаценти при ЗДАВ наближена до показників норми.

Як і в дослідженнях багатьох плацентологів [3, 24, 112], наші результати продемонстрували певну закономірність, щодо зростання органометричних параметрів при наявності запальних процесів в плаценті та насамперед, це стосувалося маси, товщини плаценти та об'єму. Ці зміни, тією чи іншою мірою, були виражені, як при ХА, так і БД. При гострому ХА маса становила – $482 \pm 4,68$ г ($p < 0,001$), середня арифметична товщина – $2,99 \pm 0,12$ см ($p = 0,004$) та об'єм органу – $805,35 \pm 35,91$ см³ ($p = 0,03$). Щодо гострого БД, ці показники становили: $484,84 \pm 4,03$ г ($p < 0,001$), $2,91 \pm 0,09$ см ($p = 0,006$) та $784,21 \pm 28,96$ см³ ($p < 0,05$) відповідно. Цей факт варто розцінювати лише як

результат набряку тканин унаслідок накопичення запального ексудату при різко виражених циркуляторних порушеннях у вигляді крововиливів у міжворсинчастий простір та децидуальну оболонку чи строму ворсин; наявності тромбів, свіжих інфарктів, повнокров'я, ангіоматоз ворсин, а не порушений морфогенез.

Привертає увагу, що при хронічному перебігу органометричні дані в незначній мірі, але все ж таки, перевищували показники гострого та при ХА становили: маса – $494,45 \pm 4,83$ г, де порівняно з нормою $p < 0,001$, товщина – $3,03 \pm 0,12$ см ($p = 0,002$), та об'єм – $837,98 \pm 38,29$ см³ ($p = 0,008$), при базальному децидуїті – $486,86 \pm 3,71$ г ($p < 0,001$), $2,81 \pm 0,08$ см ($p < 0,001$), та $731,68 \pm 21,08$ см³ ($p < 0,001$) відповідно. Підвищена органна перебудова при хронічному запаленні зумовлює гіпотезу про морфологічні прояви адаптації плаценти на запальний вплив і прояви плацентарної недостатності [91] з посиленням васкуляризації ворсин, утворенням синцитіальних вузлів, проліферацією ворсин зі збільшенням об'єму плаценти за рахунок товщини та маси.

Єдина відмінність хронічного БД від усіх форм запалення хоріальної та базальної пластинок плаценти – заміри площі материнської поверхні, які зі статистичною розбіжністю менші за показники норми ($245,43 \pm 2,06$ см², $p < 0,05$), результат, який підтверджує теорію про недостатність гестаційної перебудови при запаленні базальної пластинки плаценти [3].

Встановлено, що у плацентах з гістологічним ХА та БД у поєднанні зі ЗДАВ, параметри були наближені до норми. Можна припустити, що їх вирівнювання знову ж таки відбувається через взаємовплив двох патологічних станів. З метою пояснення таких органометричних змін до уваги можна взяти результати імуногістохімічного дослідження на проапоптотичний білок Вах у синцитіотрофобласті хоріальних ворсинок плаценти, які свідчать про інтенсивний вплив ЗДАВ на зростання процесів апоптозу при усіх формах хоріоамніоніту та базального децидуїту. Так, при гострому хоріоамніоніті на тлі ЗДАВ оптична густина імуногістохімічного забарвлення склала $0,234 \pm 0,0012$ відн. од. опт. густ. ($p < 0,001$), що 1,1 раза

більше за спостереження запалення без наявності ЗДАВ, при гострому БД – $0,236 \pm 0,0016$, $p < 0,001$ (в 1,1 раза), при хронічному хоріоамніоніті – $0,230 \pm 0,0014$, $p < 0,001$ (в 1,1 раза), та хронічному базальному децидуїті – $0,249 \pm 0,0015$, $p < 0,001$ (в 1,1 раза).

Отже, ЗДАВ може значно впливати на морфологію плаценти не тільки на ультраструктурному чи гістологічному рівнях, а й на макроскопічному.

Ми проводили ретроспективний аналіз карт вагітних з метою вивчення взаємозв'язку маси плаценти, ваги новонароджених та оцінки новонародженого за шкалою Апгар. За результатами виконаної роботи виявилось, що залізодефіцитна анемія вагітних у середньому викликає зменшення цих параметрів: маса новонароджених становила $3120,0 \pm 47$ г ($p < 0,001$), а оцінка за шкалою Апгар – $7,85 \pm 0,18$ ($p = 0,001$). Дана закономірність констатувалася і в дослідженнях інших науковців [7, 72, 195, 207].

При гострому ХА та БД маса новонароджених ($3396,0 \pm 38$ г / $3468 \pm 34,53$ г) та оцінка за шкалою Апгар ($8,13 \pm 0,11$ / $7,86 \pm 0,20$) не спостерігали статистичної розбіжності відносно показників фізіологічної вагітності. А при коморбідній ЗДАВ отримали дані, що при гострому ХА маса новонароджених склала – $3116,0$ г ($p < 0,001$), за відсутності статистичної розбіжності в оцінка за шкалою Апгар – $7,9 \pm 0,21$ ($p > 0,05$). При гострому БД маса новонародженої дитини – $3126 \pm 42,28$ г ($p < 0,001$), а оцінка за шкалою Апгар – $7,65 \pm 0,17$ ($p > 0,05$).

Результати ретроспективного аналізу карт вагітних груп дослідження з хронічним ХА та БД, переконливо доводять, що при хронічних запальних процесах хоріальної та базальної пластинок плаценти різко зменшується маса новонароджених ($3095,0 \pm 21,48$ г, $p < 0,05$ / $3050,0 \pm 24$ г, $p < 0,001$) та оцінка їх за шкалою Апгар ($7,9 \pm 0,21$, $p < 0,05$ / $7,21 \pm 0,18$, $p < 0,001$). При цьому згідно з отриманими нами раніше результатами, маса плаценти значно більша за масу плацент від породіль фізіологічної вагітності. Ці пертурбації можна доповнити висновками А. Eskild та співавт. [150], які вважають, що більші

значення маси плаценти, а також відношення маси плаценти до маси новонароджених, поєднуються з низькою оцінкою за шкалою Апгар тому, що велика плацента вимагає значно більшого забезпечення своїх тканин нутрієнтами та киснем. Як своєрідний буфер між організмами матері та дитини плацента «обкрадає» плід, який розвивається в субоптимальних умовах. Подібне може спостерігатися при порушенні плацентарної функції, наприклад при анемії у матері, а також при наявності запального процесу в тканинах плаценти. Іншим можливим варіантом розвитку подій автори вважають стимуляцію в плаценті механізмів ангиогенезу за рахунок гіпоксії, що має компенсаторний характер. У даній ситуації маса плаценти збільшується, але забезпечення плода залишається, як і раніше, субоптимальним, при цьому оцінка за шкалою Апгар статистично значно нижча. Отже, можна дійти висновку, що причини, які викликають умовне підвищення маси плаценти, здійснюють безпосередній або ж опосередкований вплив на розвиток та стан плода, чим і зумовлені отримані нами під час досліджень взаємозв'язки між масою плаценти, новонароджених та оцінкою за шкалою Апгар.

При коморбідній ЗДАВ у плацентах з запаленням з високою статистичною розбіжністю ($p < 0,001$) помічені зміни цих параметрів. Щоправда, зі зниженням маси новонароджених (при хронічному ХА – $3095,0 \pm 21,48$ г, БД – 2850 ± 28 г) та оцінки за шкалою Апгар (при хронічному ХА – 7,36, БД – $6,92 \pm 0,21$) маса плацент, у середньому, була наближена до показників фізіологічної вагітності. Проте таке наближення варто розцінювати як умовне, адже при цій, на перший погляд, нормальній вазі, в ході проведених патогістологічних досліджень нами були отримані суттєві морфофункціональні зміни плаценти. А також, на основі раніше викладених припущень щодо органометричних показників плацент при коморбідній материнській анемії, можна вважати, що це потенційно могло би вплинути на розвиток плода.

З оглядовою метою було використане забарвлення препаратів гематоксиліном та еозином, за допомогою якого підтверджувалося або спростовувалося запалення посліду, а для кращої ідентифікації колагенових волокон зрізи забарвлювали хромотропом-2В-водним блакитним після протравлення фосфорно-вольфрамовою кислотою за методикою Н. З. Слінченка. Класична пікрофуксинова методика за Ван-Гізоном не повністю виявляє колагенові волокна в стромі хоріальної та базальної пластинок плаценти. Як більш придатну, А. П. Мілованов рекомендує методику за Малорі. Деякі її модифікації, зокрема методика за Н. З. Слінченка, допомагають в одному зрізі окремо виявляти колагенові волокна та фібрин [39]. Це яка і стала власне обраним методом для ідентифікації колагенових волокон у плаценті при запаленні у поєднанні зі ЗДАВ. Додатково, за допомогою комп'ютерної мікроденситометрії проведено кількісне визначення питомого об'єму та оптичної густини гістохімічного забарвлення колагенових волокон хоріальної, а також базальної пластинок плаценти. Застосування даної методики дало нам змогу скласти уявлення про стан колагеноутворення при гострому та хронічному запаленнях та виявити вплив ЗДАВ на особливості перебігу цих процесів. Оскільки колагенові волокна постійно наявні в плацентах на різних термінах гестації, вищезазначене важливе для оцінки патології плаценти.

У хоріальній пластинці дослідження проводилося з урахуванням анатомічних особливостей, окремо в трьох шарах: мезодермальній основі амніона, спонгіозному шарі та мезодермальній основі хоріальної пластинки.

У плацентах від породіль з клінічно діагностованою залізодефіцитною анемією найвищі показники питомого об'єму та оптичної густини гістохімічного забарвлення колагенових волокон отримано в МОХП (питомий об'єм – $32 \pm 0,49$ %, $p < 0,001$, оптична густина – $0,321 \pm 0,0031$ відн. од. опт. густ, $p = 0,02$) та в базальній пластинці плаценти ($12 \pm 0,36$ %, $p < 0,001$ та $0,198 \pm 0,0022$ відн. од. опт. густ., $p < 0,001$ відповідно), ймовірно через найближче розташування даних структур серед інших досліджуваних, до

материнської крові, збільшення котрих можна розцінювати як реакцію на гемічну гіпоксію в міжворсинчастому просторі, при якій відбувається різка активація експресії гена HIF-1 α , а білкові продукти його беруть активну роль у проліферативній активності [119], що може зумовити посилену проліферацію клітин строми плаценти.

Колагенова мережа – метаболічно активна структура в тому сенсі, що баланс між синтезом і деградацією колагену є циклічний і регулюється фібробластами та міофібробластами. Також чимало прозапальних цитокінів (TNF- α (фактор некрозу пухлин – α), інтерлейкін-1 і -6), які секретуються моноцитами і макрофагами, впливають на функцію фібробластів і міофібробластів, цим самим порушуючи баланс між утворенням та деградацією колагенових волокон. У відповідь на вищезазначені фактори порушується здатність фібробластів синтезувати і секретувати проколаген, а також ферменти, що сприяють їх переходу в зрілі форми колагену, і ферменти, які здійснюють деградацію колагену [100, 200]. Щодо останніх важливу роль, за даними світової літератури, відіграють матриксні металопротеїнази (інтерстеційна колагеназа MMP – 1, нейтрофільна колагеназа MMP – 8 і колагеназа 3 – MMP – 13) – родини ферментів, які інгібуються специфічними тканинними інгібіторами металопротеїнази [100, 200, 147].

Все це може слугувати обґрунтуванням отриманих нами даних, що при гострому ХА зменшуються показники оптична густина колагенових волокон та питомий об'єм в СШХП ($0,189 \pm 0,0019$ від. од. опт. густ. / $2 \pm 0,32$ %) та МОХП плаценти ($0,196 \pm 0,0019$ від. од. опт. густ. / $12 \pm 0,39$ %) порівняно з плацентами від фізіологічної вагітності.

Щодо коморбідної ЗДАВ, то кількісні параметри мають статистично вірогідну тенденцію до зростання тільки в МОХП плаценти порівняно з запаленням без анемії, що проявлялося збільшенням питомого об'єму колагенових волокон – $14 \pm 0,39$ %, $p < 0,001$.

При гострому БД відбувалися зміни в питомому об'ємі колагенових волокон, які у середньому статистично нижчі за норму, та становлять $7 \pm 0,36$ %, $p=0,02$. А при коморбідній ЗДАВ помічено збільшення процесів колагеноутворення, де питомий об'єм дорівнював – $10 \pm 0,29$ %, ($p<0,001$), а оптична густина – $0,196 \pm 0,0024$ від. од. опт. густ ($p=0,002$).

Усі циркулюючі біомаркери метаболізму колагену можна поділити на дві групи: біомаркери, пов'язані зі синтезом колагену та з його деградацією [39, 199]. І на відміну від гострого ХА та БД, де передували процеси посиленої деградації колагену, при хронічному запаленні ми показали інтенсифікацію процесу розростання колагенових волокон як хоріальної, так і базальної пластинок плаценти, що узгоджується з твердженням В. А. Шкурупія [118]. Він у своїх працях зазначає, що для реалізації усіх цих процесів необхідний час і якісь механізми «прийняття та реалізації рішення» і, ймовірно, в ракурсі проліферації колагену при хронізації процесу можна надати макрофагам та фібробластним клітинам. Стосовно проблеми чинників і механізмів ініціації процесу синтезу сполучної тканини в умовах патології припускають, що такими є продукти некрозу клітин і структур, різних за хімічним складом або продукти перетравлення цих структур в макрофагах після їх захоплення. Це ініціює ендоцитозну активність, синтез і секрецію макрофагами багатьох прозапальних цитокінів, а також лізосомальних ферментів і ростових факторів. Останні демонструють проліферативну і синтетичну активність фібробластів, міофібробластів і жиропоглинаючих клітин, а також, можливо, й інших клітин – продуктів епітеліально-мезенхімальної трансформації [118, 246, 216]. Отже, існує здатність фагоцитуючих клітин брати участь в ініціації процесу фіброгенезу, поєднана з реалізацією ними свого процесу перетравлення або окремих його етапів. Очевидно, макрофаги є фактором детермінації в ініціації процесу фіброзу через секрецію фактору некрозу пухлини (TNF) α , інтерлейкіну – 6 та 1 β , трансформуючого фактору росту (TGF) β 1 і тромбоцитарного фактору росту (PDGF), індукуючи проліферацію міофібробластів, які беруть участь у

синтезі колагену [118, 247]. Тканинні макрофаги секретують матриксні металопротеїнази, які призводять до деградації позаклітинного матриксу при гострому запаленні, притягуючи все більше запальних клітин до місця пошкодження та запалення, створюючи умови для формування фіброзної тканини при хронічному.

Зокрема, у наших дослідженнях хронічний ХА спричиняє статистично значиме збільшення відсотка колагенових волокон тільки в МОХП – $5 \pm 0,36$ ($p=0,03$). Втім, оптична густина гістохімічного забарвлення, окрім як у МОХП ($0,329 \pm 0,0028$, $p<0,001$), зростала ще й в МОА – $0,329 \pm 0,0028$ ($p<0,001$). Коморбідна ЗДАВ, знову ж таки, впливає на збільшення відсотка питомого об'єму колагенових волокон в МОХП – $38 \pm 0,53$, де $p<0,001$ порівняно зі запаленням без ЗДАВ, а оптичної густини гістохімічного забарвлення в МОА – $0,337 \pm 0,0029$ ($p<0,001$), СШХП – $0,329 \pm 0,0021$ ($p<0,001$) та в МОХП – $0,338 \pm 0,0018$ ($p=0,02$). Це збільшення відбувається під впливом гіпоксії з активацією експресії гена HIF-1 α , білкові продукти якого сприяють активнішому процесу утворення колагену [119]. Щодо хронічного БД зміни стосувалися як питомого об'єму ($13 \pm 0,38$, $p<0,001$), так і оптичної густини гістохімічного забарвлення колагенових волокон ($0,197 \pm 0,0024$, $p<0,001$) порівняно з нормою та ще інтенсивніше – при коморбідній ЗДАВ ($24 \pm 0,35$, де $p<0,001$ порівняно з фізіологічною вагітністю та $0,224 \pm 0,0033$, $p<0,001$ відповідно).

Загальновідомо, що більшість патологічних процесів відбувається на тлі утворення активних форм кисню, а також азоту та хлору – так званих первинних вільних радикалів, та інтенсифікації вільнорадикального окиснення біосубстратів, які належать до різних класів органічних сполук (білки, ліпіди, нуклеїнові кислоти) [10, 137].

Морфологічна оцінка окиснювального стресу у структурах плацентарної тканини повинна бути комплексною та включати чимало патогістологічних методів дослідження. Насамперед значну увагу потрібно приділяти визначенню радикалів, зокрема нітропероксидів, які завдяки

більшому часу існування здатні долати значніші дифузійні дистанції і тому спроможні викликати реальну патологію у середині тканини, а не тільки на її поверхні [25] та підлягати кількісним дослідженням.

Існує низка методів для вивчення реакцій за участю радикалів [2, 19, 50], проте найпридатнішим за даними світової літератури, хемілюмінесцентний метод, позаяк явище хемілюмінесценції відображає інтенсивність процесів, які відбуваються, а не концентрацію речовин [19]. Це, власне, і спонукало нас використати хемілюмінесцентний метод для вирішення поставленої в дисертаційній роботі мети. Методики дотримувалися із застосування на заморожених зрізах плаценти, а хемілюмінесценцію ініціювали люмінолом. Далі за допомогою комп'ютерної оцінки визначали інтенсивність світіння за шкалою у 256 градацій – від 0 (показник відсутності світіння) до 255 (максимальна інтенсивність світіння), що дало можливість здійснити кількісні вимірювання люмінесценції (умовні одиниці світіння).

У нашому дослідженні визначено, що в плацентах від вагітних, у яких діагностовано залізодефіцитну анемію, підвищення рівня нітропероксидів спостерігалось тільки в ендотеліоцитах кровоносних судин хоріальної пластинки плаценти серед усіх досліджуваних структур ($35 \pm 4,7$ ум. од. св. при показниках фізіологічної вагітності – $18 \pm 4,8$ ум. од. св., $p=0,01$). Близькі до наших були отримані результати А. В. Гошовською та співавт. [25] при вивченні нітропероксидів у цитоплазмі трофобласта хоріальних ворсинок при ЗДАВ.

Разом із цим, заручившись наступними результатами досліджень, не варто недооцінювати взаємозв'язок вільних радикалів із запальним процесом, адже вільні радикали активно беруть участь у розвитку запальної реакції, починаючи з фази альтерації та закінчуючи процесами репарації [88, 170]. Так, вивчаючи нітропероксидази в ендотеліоцитах кровоносних судин хоріальної пластинки плаценти при хоріоамніоніті (гострий ХА – $154 \pm 4,4$ ум. од. св., при показниках норми – $18 \pm 4,8$ ум. од. св., $p < 0,001$; хронічний ХА –

112±4,2 ум. од. св., $p<0,001$) та базальної пластинки при базальному децидуїті (гострий БД – 145±3,2 ум. од. св., при показниках норми – 33±3,8 ум. од. св., $p<0,001$; хронічний БД – 93±4,1 ум. од. св., $p<0,001$) нами було помічено зростання інтенсивності яскравості порівняно з нормою, з найвищими показниками при гострих формах. Така ж тенденція спостерігалася І. С. Давиденком та співавторами [33], які хемілюмінесцентну методику з люмінолом використовували при визначенні нітропероксидів у цитоплазмі синцитіотрофобласту хоріальних ворсин плаценти при гнійному хоріоамніоніті. Після її проведення середні кількісні показники були статистично вищі за показники фізіологічної вагітності.

Щодо коморбідної ЗДАВ при запаленні, то тільки при хронічному ХА (133±4,5 ум. од. св., $p=0,001$) та БД (115±4,4 ум. од. св., $p<0,001$) помітили інтенсифікацію хемілюмінесцентного світіння нітропероксидів в ендотеліоцитах кровоносних судин.

У децидуоцитах базальної пластинки плаценти як при гострому БД – 98±3,8 ум. од. св. ($p<0,001$), так і при хронічному – 130±4,4 ум. од. св. ($p<0,001$) отримано статистично вірогідне зростання інтенсивності яскравості нітропероксидів. Така ж тенденція спостерігалась і при коморбідній ЗДАВ (гострий БД – 115±4,1 ум. од. св., $p=0,004$, хронічний – 164±4,5 ум. од. св., $p=0,002$).

Спробуємо знайти логічне пояснення отриманих кількісних показників хемілюмінесцентного світіння нітропероксидів при запаленні та пов'язати їх із результатами інших дослідників.

Це насамперед, можна пов'язати з тим, що ендотелій входить до тканин, найбільш чутливих до впливу гіпоксії, та першим активується при запаленні. При стимуляції ендотеліальних клітин та гладком'язових клітин наявний надлишок радикалів, зокрема супероксидного аніон-радикала (O_2^-), який легко вступає в реакцію з вільним оксидом азоту (NO), формуючи високореактивне та токсичне з'єднання – пероксинітрит ($ONOO^-$). Це може бути однією із головних причин розвитку вазоконстрикторного ефекту,

порушення процесів мікро- та макроциркуляції, метаболічних розладів у тканинах і їх прискорення, та, зрештою, – прискорення в клітинах процесів апоптозу та некрозу [107, 125]. В аспекті залізодефіцитної анемії знайдені цікаві факти дослідників, які припускають, що внаслідок посилення синтезу NO-синтаз депонується у вигляді динітрозильних комплексів заліза та S-нітрозотіолів, механізм якого ймовірно зумовлений збільшенням рівня вільного заліза. Іншими словами, вільнорадикальні процеси сприяють вивільненню вільного заліза з феритину та відповідному накопиченню динітрозильних комплексів заліза, а це все може посилювати і без того існуючий дефіцит заліза [41].

Окрім цього джерелами реактивних радикалів можуть бути як внутрішньоклітинні структури (мітохондрії, ксантиноксидаза), так і позаклітинні – нейтрофіли і макрофаги. Лімфоцити та фібробласти також постійно генерують невелику кількість супероксид-радикалів. А оскільки ці клітинні елементи постійно наявні у великій кількості при запаленні, це і підтверджує високу концентрацію радикалів в осередках запалення [106].

Активні форми кисню можуть розглядатися як основні індуктори ОМБ [90, 129].

Посилаючись на дані дослідників, що рівень показників ОМБ порівняно з рівнем перекисного окиснення ліпідів більш інформативний маркер наявності окиснювального стресу [78], нами використана гістохімічна методика на кислі та основні білки з бромфеноловим синім за Mikel Calvo. Сутність цього методу дослідження полягає в тому, що окиснення аміногруп білків призводить до зміни співвідношення між аміно- та карбоксильними групами у них, а при фарбуванні гістологічних зрізів бромфеноловим синім білки забарвлюються у різні кольори. Зокрема, основні білки забарвлюються в синій колір, кислі – у червоний.

Оцінку кольорів ми здійснювали методом комп'ютерної мікроспектрофотометрії на цифрових копіях зображень у середовищі комп'ютерної програми Image J [151] (1.48, W. Rasband, National Institutes of

Health, USA) у системі оцінки кольору RGB. Фінальним результатом дослідження було одержання коефіцієнта R/B, який власне і є кількісним виразником співвідношення між аміно- та карбоксильними групами білків та показником ступеня окиснювальної модифікації білків [29, 35, 32, 114].

При гістохімічному дослідженні плацент і зі ЗДАВ у фібриноїді та ендотеліоцитах хоріальної та базальної пластинки плаценти відбулося зростання показників коефіцієнта R/B ($p < 0,05$). Проте у децидуоцитах базальної пластинки такої закономірності не спостерігалось. Отримані результати доповнюють висновки науковців, які досліджували процес ОМБ в інших структурах плаценти при ЗДАВ [21].

Враховуючи отримані нами раніше дані про високий рівень нітропероксидів при запаленні посліду, зростання коефіцієнта R/B, найправильніше пов'язати зі зростанням інтенсивності процесів ОМБ. Так, наші результати показали, що у групі плацент із гострим та хронічним ХА в ендотеліоцитах та фібриноїді хоріальної пластинки плаценти з високою статистичною вірогідністю ($p < 0,001$) зростали показники коефіцієнта R/B порівняно з нормою та ЗДАВ без запалення. Зокрема, після мікроспектрофотометрії в ендотеліоцитах кровоносних судин при гострому ХА коефіцієнт становив $1,84 \pm 0,026$ ум. од. св., а при хронічному $1,29 \pm 0,019$ ум. од. св.; у фібриноїді при гострому ХА $1,44 \pm 0,014$ ум. од. св, при хронічному $2,34 \pm 0,019$ ум. од. св.

З отриманих показників коефіцієнта R/B стало відомо, що у фібриноїді середні дані були вищими при хронічній формі запалення, а в ендотеліоцитах – при гострій. Це зумовлено тим, що фібриноїд плаценти є місцем відкладання протеїнів різного походження – і з зруйнованих клітин (еритроцитів, тромбоцитів, поліморфно-ядерних лейкоцитів, лімфоцитів, трофобласта, стромальних клітин плаценти тощо), білків материнської крові (фібриноген, інтегрини, імуноглобуліни тощо) і він так чи інакше потенційно здатний відображати складні процеси, які розвиваються при запаленні плаценти за участю вказаних клітин і білків материнської крові [16, 132] і

чим триваліший процес, тим інтенсивніше. Це і пояснює більші показники рівня ОМБ при хронічному запаленні.

У спостереженнях при коморбідній ЗДАВ нами показано інтенсифікацію процесів ОМБ тільки при хронічному ХА. А враховуючи наявність кореляційного зв'язку між інтенсивністю хемілюмінесцентного світіння нітропероксидів та коефіцієнтом R/V в ендотелію кровоносних судин хоріальної пластинки плаценти при гострому ($r=0,781$, $p<0,05$) та хронічному ХА ($r=0,793$, $p<0,05$) при коморбідній ЗДАВ можна стверджувати про індукцію процесів ОМБ вільними радикалами при поєднанні цих станів.

Щодо БД, то в усіх структурах (ендотеліоцитах, фібриноїді та децидуоцитах) базальної пластинки плаценти підвищуються процеси ОМБ ($p<0,001$). Як і в хоріальній пластинці при ХА, при гострому БД найуразливішими до вільнорадикальних процесів виявились ендотеліоцити кровоносних судин – $1,84\pm0,026$ ум. од. св. та децидуоцити базальної пластинки плаценти – $1,38\pm0,010$ ум. од. св., а при хронічному, як і очікувано, фібриноїд – $2,34\pm0,019$ ум. од. св., при статистично вірогідних змінах значення і в інших досліджуваних структурах, $p<0,001$ (ендотеліоцити кровоносних судин – $1,29\pm0,019$ ум. од. св., децидуоцити – $1,89\pm0,015$ ум. од. св.). Коморбідна ЗДАВ призводить до збільшення коефіцієнта R/V у фібриноїді ($2,89\pm0,022$ ум. од. св., $p<0,001$) та ендотеліоцитах кровоносних судин ($1,46\pm0,022$ ум. од. св., $p=0,002$) тільки при хронічному БД, а у децидуоцитах – при усіх формах запалення посліду (при гострому БД – $1,42\pm0,012$ ум. од. св. ($p=0,014$), хронічному БД – $2,14\pm0,018$ ум. од. св. ($p<0,001$)). При цьому зазначимо, що в усіх структурах та при усіх формах запалення показники були вищими за параметри фізіологічної вагітності. Такі високі кількісні параметри, котрі відображають процеси ОМБ при коморбідній ЗДАВ, були скоріше за рахунок високої концентрації нітропероксидів, які виявлено нами хемілюмінесцентним методом та що підтверджується результатами кореляційного аналізу в ендотеліоцитах базальної пластинки плаценти. Так при гострому БД $r=0,806$ ($p<0,05$), а при

хронічному – $r = 0,816$ ($p < 0,05$). Для комплексного уявлення процесів вільнорадикального окиснення в плаценті варто врахувати висновки дослідників, які визначали ступінь ОМБ в інших структурах плаценти при хоріоамніоніті та базальному децидуїті [120]. Були знайдені дані про те, що процесам ОМБ піддаються ще й білки цитоплазми трофобласта та ендотелію хоріальних ворсинок, які корелювали з концентрацією нітропероксидів цієї ж локалізації. При цьому в трофобласті коефіцієнт R/V при гострих проявах запалення був вищий, ніж при хронічних. Така ж закономірність, але тільки при ХА спостерігалася в ендотелію хоріальних ворсинок, а при гострому та хронічному БД середні показники статистично були наближені до показників фізіологічної вагітності.

Вважається, що однією з причин змін ОМБ може бути неконтрольована інтенсифікація перекисного окиснення ліпідів [137]. Відомо, що продукти окиснення, зокрема малоновий діальдегід, який є продуктом розщеплення жирних кислот, реагуючи з лізиновими залишками білків, викликають їх деградацію з утворенням різноманітних цитотоксичних сполук. Цей альдегід утворює шиффові основи з аміногрупами білків, у результаті чого, утворюються нерозчинні ліпід-білкові комплекси, які іноді називають пігментами зношування (ліпофусцин) [96, 201].

У зв'язку з тим, що гіпоксія, яка розвивається при плацентарній дисфункції, може зумовлювати інтенсифікацію перекисного окиснення ліпідів [94], ми спробували знайти цей біологічний пігмент у структурах плаценти, який зазвичай локалізується у вигляді скупчень дрібних гранул жовто-коричневого кольору, при цьому подібних утворень не ідентифіковано.

Вважається, паралельно зі зростанням процесів ОМБ можуть зростати й процеси обмеженого протеолізу. При цьому ознак змін концентрації загального білка, які визначали гістохімічним методом із бромфеноловим синім за Бонхегом у поєднанні з комп'ютерною мікроденситометрією

(додаток Е) у структурах плаценти, нами не було виявлено, що вказує на факт достатньої регенерації білків у клітинах.

Для вивчення процесів обмеженого протеолізу застосовували гістохімічну методику за допомогою нінгідриново-шифововської реакції на вільні аміногрупи білків за методом А. Yasuma та Т. Ichikava, який допоміг оцінити ступінь обмеженого протеолізу внаслідок того, що «відкривалися» приховані аміногрупи білків. Далі на цифрових копіях зображень, у середовищі комп'ютерної програми, мікроденситометричним методом, визначали оптичну густину гістохімічного зображення у відн. од. опт. густини.

Ознаки підвищеного протеолізу при ЗДАВ найбільше виражені були в фібриноїді як хоріальній ($0,312 \pm 0,0026$ відн. од. опт. густ.), так і базальній ($0,310 \pm 0,0024$ відн. од. опт. густ.) пластинок плаценти ($p < 0,001$). Стосовно гострого та хронічного ХА та БД процеси обмеженого протеолізу зі статистичною вірогідністю ($p < 0,001$) вищі за показники фізіологічної вагітності в ендотеліоцитах і фібриноїді. Зокрема, оптична густина гістохімічного забарвлення в ендотеліоцитах кровоносних судин при гострому ХА становила $0,215 \pm 0,0013$ відн. од. опт. густ., а при хронічному – $0,205 \pm 0,0021$ відн. од. опт. густ.; у фібриноїді – $0,311 \pm 0,0024$ відн. од. опт. густ. та $0,316 \pm 0,0024$ відн. од. опт. густ. відповідно. При гострому БД в ендотеліоцитах – $0,194 \pm 0,0018$ відн. од. опт. густ., при хронічному – $0,192 \pm 0,0014$ відн. од. опт. густ.; у фібриноїді – $0,316 \pm 0,0027$ відн. од. опт. густ. та $0,326 \pm 0,0034$ відн. од. опт. густ. відповідно. У децидуоцитах базальної пластинки плаценти тільки хронічна форма БД викликає зростання обмеженого протеолізу, що підтверджується відносними одиницями оптичної густини – $0,182 \pm 0,0021$, $p < 0,001$.

Коморбідна залізодефіцитна анемія з однаковою інтенсивністю впливає на процеси обмеженого протеолізу в ендотеліоцитах кровоносних судин як при гострих, так і при хронічних формах хоріоамніоніту ($0,229 \pm 0,0012$ відн. од. опт. густ. / $0,224 \pm 0,0015$ відн. од. опт. густ.) та базального децидуїту

($0,220 \pm 0,0020$ відн. од. опт. густ. / $0,221 \pm 0,0021$ відн. од. опт. густ.) відповідних пластинок плаценти ($p < 0,001$). А у фібриноїді, тільки при хронічному запаленні (хронічний ХА – $0,339 \pm 0,0036$ відн. од. опт. густ., хронічний БД – $0,341 \pm 0,0038$ відн. од. опт. густ.). У децидуоцитах базальної пластинки плаценти середні кількісні показники оптичної густини гістохімічного забарвлення збільшувалися при коморбідній ЗДАВ, тільки при хронічному БД ($0,196 \pm 0,0024$, $p < 0,001$).

Ці результати доповнюють картину вільнорадикальних процесів, яка відображає з певною закономірністю логічний зв'язок процесів: зростання кількості нітропероксидів із наступним посиленням процесом ОМБ, зі зростаючою активністю процесів обмеженого протеолізу. Цей причинно-наслідковий зв'язок підтверджено результатами кореляційного аналізу за методом Пірсона в ендотеліоцитах кровоносних судин базальної та хоріальної пластинок плаценти за всіх форм запалення посліду при коморбідній ЗДАВ ($p < 0,05$).

З метою вивчення інших особливостей ендотеліальної дисфункції при запаленні плаценти на тлі ЗДАВ було проведене імуногістохімічне визначення фактору von Willebrand, знайшовши дані, що АФК також відіграють важливу роль у регуляції вивільнення ендотеліального фактору von Willebrand, який є маркером активації або дисфункції ендотелію [132]. Так, наприклад, супероксид-аніон радикала (O_2^-) вважається активатором ендотеліального екзоцитозу, натомість пероксид водню (H_2O_2) пригнічує тромбін-індуковану секрецію фактору vW залежно від дози. З іншого боку, H_2O_2 індукує слабку секреторну реакцію. Оксид азоту (NO), ймовірно, є ще однією реактивною речовиною, яка проявляє інгібуючу дію на секрецію фактору vW [225].

З метою ідентифікації та вивчення фактору vW при запаленні посліду і зі ЗДАВ ми вдавалися до імуногістохімічної методики із застосуванням первинних антитіл проти фактору vW з візуалізацією полімерною системою (DAKO) з барвником діамінобензидином. Далі мікроденситометричним

методом на цифрових копіях зображення за допомогою програмного забезпечення визначали оптичну густину (в од. опт. густ.) імуногістохімічного зображення на фактор vW. Цей метод упроваджений у діагностику різних патологічних процесів в плаценті [42, 36, 108], проте в них не вивчався аспект запалення плаценти при ЗДАВ.

У ході проведених досліджень встановлено, що специфічне імуногістохімічне забарвлення на фактор vW вдалося визначити тільки в кількох структурах плаценти: в ендотеліоцитах кровоносних судин, фібриноїді різної локалізації, а іноді – на поверхні трофобласта хоріальних ворсинок плаценти, що тотожне з даними інших науковців, які вивчали проблеми патології посліду [36].

Зокрема, вдалося з'ясувати, що при ЗДАВ відбувається збільшення рівня фактору vW у фібриноїді ($0,149 \pm 0,0020$ відн. од. опт. густ., $p < 0,001$) та цитоплазмі ендотеліоцитів кровоносних судин ($0,322 \pm 0,0021$ відн. од. опт. густ., $p < 0,001$) хоріальної та ще інтенсивніше – базальної пластинки плаценти ($0,168 \pm 0,0022$ відн. од. опт. густ., $p < 0,001$ та $0,385 \pm 0,0028$ відн. од. опт. густ., $p = 0,003$ відповідно), що підтверджують отримані результати дослідників, які при інкубації культивованих ендотеліальних клітин людини в умовах гіпоксії помітили стимулювання секреції фактору von Willebrand, концентрація якого збільшилася більш ніж у чотири рази [182, 206].

Сучасні поглиблені вивчення фактору von Willebrand демонструють, що він також бере участь у регуляції запалення, модулюючи адгезію лейкоцитів через прямі і непрямі механізми [245]. Це може бути поясненням того, що при запаленні посліду в наших дослідженнях у середньому зростали кількісні показники імуногістохімічного забарвлення на фактор vW, проте це не було закономірним, оскільки його рівень помітно варіював залежно від виду запалення та досліджуваних структур, на що варто дати логічне пояснення. Так, при гострому ХА та БД згідно з кількісними показниками імуногістохімічного забарвлення, фактор vW збільшується тільки в ендотеліоцитах хоріальної ($0,323 \pm 0,0024$ відн. од. опт. густ., $p < 0,001$) та

базальної ($0,396 \pm 0,0027$ відн. од. опт. густ., $p < 0,001$) пластинок плаценти. А при хронічному перебігу запальних процесів – як у цитоплазмі ендотеліоцитів кровоносних судин ($0,328 \pm 0,0025$ відн. од. опт. густ., $p < 0,001$ / $0,398 \pm 0,001$ відн. од. опт. густ., $p < 0,001$), так і в фібриноїді ($0,158 \pm 0,0030$, $p < 0,001$ / $0,170 \pm 0,0033$, $p < 0,001$) відповідних пластинок плаценти. При цьому показники були вищими, ніж при гострому запаленні. Цей факт підтверджується тим, що рівень фактору vW безперервно зростає зі зростаючою важкістю запалення, водночас рівень ADAMTS13 – металопротеїнази, яка здатна розщеплювати та формувати мультимери фактору vW нормальної та малої молекулярної маси, знижується, що призводить до накопичення нерозщеплених молекул фактору vW [133]. Повертаючись до вільнорадикальних процесів, АФК знайшли свою роль у зниженні каталітичних властивостей ADAMTS13 [140]. Окрім того, зростання фактору vW при хоріоамніоніті та базальному децидуїті відбувається в зв'язку з тим, що в тільцях Weibel-Palade фактор він локалізується з прозапальними білками: Р-селектином, ангіопоетином-2, еотаксином-3 та, зокрема, цитокіновим інтерлейкіном-8 [168], за умов пошкодження, фактор vW вивільняється разом із прозапальними білками, що зумовлює «перемикання» ендотеліальних клітин від протизапальних – антикоагуляційних до прозапальних – прокоагуляційних [145, 152, 158, 176].

Також помічено, що при коморбідній ЗДАВ відбувається збільшення показників оптичної густини гістохімічного забарвлення на фактор vW при усіх формах запалення посліду та досліджуваних структур, де $p < 0,05$ (при гострому ХА: ендотеліоцити – $0,386 \pm 0,0025$, фібриноїд – $0,152 \pm 0,0028$; при хронічному ХА: ендотеліоцити – $0,385 \pm 0,0027$, фібриноїд – $0,171 \pm 0,0036$; при гострому БД: ендотеліоцити – $408 \pm 0,0029$, фібриноїд – $0,170 \pm 0,0029$; при хронічному БД: ендотеліоцити – $0,416 \pm 0,0032$, фібриноїд – $0,181 \pm 0,0034$). Це зумовлено тим, що гіпоксія активує резидентні адвентиційні фібробласти, викликаючи продукцію, і без того присутніх при запаленні, прозапальних цитокінів і хемокінів, які, як наслідок, сприяють вивільненню з

ендотеліоцитів фактору vW. Однак на цьому роль анемії не закінчується, далі може відбутися міграція моноцитів/фіброцитів в переваскулярний простір, безпосередньо впливаючи на процес ремоделювання, ангіогенезу, синтезу колагену та ін. [49].

Тому не варто недооцінювати роль фактору vW при запаленні посліду, адже його концентрація в плацентарних структурах є проявом пошкодження й активації насамперед судинного ендотелію. «Стратегічне» розташування ендотеліальних клітин зумовлює те, що вони першими залучаються до різних патологічних процесів. При порушенні функції або структури ендотелію різко змінюється спектр біологічно активних речовин, які він утворює, а за несприятливих умов, наприклад запалення та гіпоксії, викликаної ЗДА, ендотелій є ініціатором багатьох патологічних процесів в організмі [121].

Припускають, що запалення може бути загальним стимулом для вивільнення ендотеліальними клітинами ULVWF (ультравеликого фактору von Willebrand), отриманому з ендотеліальних клітин, що може призвести до дефіциту ADAMTS13-металопротеїнази. В результаті ULVWF мультимери можуть зберігатися на ендотеліальних клітинах судин і в плазмі крові досить довго, щоб викликати адгезію і агрегацію тромбоцитів, що здатне спричинити тромбоз [133]. Крім цього, при пошкодженні ендотелію у зоні альтерації виникає недостатність активності простаглантсинтетази і посилюється трансформація простагландину G2 у тромбоксан A2 під впливом тромбоксансинтетази тромбоцитів. Надмірне утворення тромбоксану супроводжується розвитком спазму судин, посиленням агрегації тромбоцитів і розвитком тромбоутворення [102]. Провідну роль у виникненні тромбозу варто ще надати прозапальним цитокінам. Зокрема, TNF- α є багатофункціональним цитокіном із прозапальними імунорегулюючими властивостями, який своєю чергою здатний стимулювати продукцію IL-1, IL-6, здійснювати виражену хемотактичну дію на моноцити, брати активну участь у запальних реакціях, викликати експресію молекул адгезії на поверхню ендотеліальних клітин судин, що призводить до підвищеного

прилипання нейтрофільних гранулоцитів, моноцитів та лімфоцитів на поверхні цих клітин. Дисфункція ендотелію значно впливає на розвиток неконтрольованої коагуляції в крові, зокрема спричиняє розвиток тромбозу, внутрішньосудинну коагуляцію тромбоцитів, тощо [18]. Після впливу TNF- α , IL-1 експресія iNOS в ендотеліальних та гладком'язових клітинах, а також макрофагах зумовлює пролонгований синтез великої кількості NO, а також ушкодження ендотелію судин та його дисфункції [106, 173].

Це все підтверджує наші висновки щодо візуальної оцінки мікрофотографій при хронічному ХА та БД. Зокрема, у просвіті судин візуалізувались позитивно забарвлені на фактор von Willebrand структури різної форми, які інколи охоплювали більш як половину просвіту судин та були подібні на тромби. Такі ж утворення ідентифікувались при забарвленні препаратів із бромфеноловим синім за Mikel Calvo та за допомогою нінгідриново-шифоровської реакції на вільні аміногрупи білків за методом A. Yasuma та T. Ichikawa.

За допомогою забарвлення препаратів за методикою Н. З. Слінченко вдалося підтвердити що ці структури були тромбами, оскільки вони містили фібрин.

У гістологічних зрізах препаратів плаценти з ознаками хронічного запалення подекуди траплялися невеличкі групи округлих клітин різної форми, які також інтенсивно забарвлювались при застосуванні методики на фактор vW, що, ймовірно, можна трактувати як процес новоутворення кровоносних судин. Такі ж самі утворення констатувалися О. А. Тюленєвою та співавт. [108] при застосуванні імуногістохімічної методики на матеріалі матково-плацентарної ділянки з метою вивчення фактору vW. Враховуючи дані про те, фактор vW бере активну участь у формуванні судин [108, 245, 261], ці об'єкти відображали процеси ангіогенезу [138], які закономірно залежали від впливу реактивних форм кисню через вивільнення мультимерного глікопротеїну плазми, який впливає на процес ангіогенезу [214].

Недостатність кисню – основний рушій активації ангиогенезу, відповідно і в наших спостереженнях при ЗДАВ відбувались посилені процеси ангиогенезу оскільки гіпоксія, викликана анемічним станом, на 30 % підвищує вміст молекули клітинної адгезії ICAM-1 (Intracellular Cell Adhesion Molecule-I) на поверхні ендотеліальних клітин [49, 148, 197, 198]. Окрім цього, деякі клітини спроможні підвищувати рівень VEGF (Vascular endothelial growth factor) під час гіпоксії, серед яких фібробласти, міоцити гладкої мускулатури та, зокрема, ендотеліальні клітини. У такий спосіб дія проангіогенних факторів перевищує дію антиангіогенних, ендотеліальні клітини переходять і з звичайного стану в активний та відбувається активація ангиогенезу [45, 128, 36, 241]. В цьому аспекті, привертають увагу дослідження Анчевої І. А. [8], які свідчать про нерівномірне збільшення інтенсивності VEGF у стінці судин термінальних ворсин і клітинах периферичного цитотрофобласта при дисфункції плаценти та ЗДАВ.

Дані багатьох досліджень свідчать про те, що через свою високу хімічну активність активовані кисневі метаболіти можуть пошкоджувати внутрішньоклітинні структури та бути індукторами і медіаторами апоптозу [126, 196, 242, 244, 259]. Фактори хімічної та фізичної природи, які за умов дії на клітини викликають окислювальний стрес, також індукують апоптоз через зовнішні або внутрішні сигнали, а інколи і призводять до його модифікації [259]. Окислювальний стрес може змінити деякі ключові апоптотичні регулятори, як-от: білки родини Bcl-2, p53, і компоненти, наприклад апоптоз-регульована кіназа-1 (ASK-1), c-JNK і p38 MAPK [251].

При імуногістохімічній ідентифікації проапоптотичних Вах молекулярних факторів, застосовували первинні антитіла до протеїну з візуалізацією первинних антитіл полімерною системою (DAKO) з барвником діамінобензидином. У результатах наших досліджень зазначені отримані кількісні показники оптичної густини імуногістохімічного забарвлення (після аналізу цифрових копій зображень за допомогою комп'ютерної програми ImageJ), на протеїн Вах синцитіотрофобласті хоріальних ворсинок та у

децидуцитах базальної пластинки плаценти. Була спроба проведення методики на матеріалі інших структур хоріальної пластинки плаценти, проте в них експресія була надто слабкою та не підлягала кількісному визначенню.

Отже, наші дані щодо кількісних параметрів гістохімічного забарвлення у децидуцитах базальної пластинки плаценти та синцитіотрофобласті хоріальних ворсинок при ЗДАВ демонструють зростання процесів апоптозу, які виявляються у високих показниках імуногістохімічного забарвлення на проапоптотичний білок Вах порівняно з фізіологічною вагітністю ($0,132 \pm 0,0014$ відн. од. опт. густ, при контрольних показниках – $0,121 \pm 0,0012$ відн. од. опт. густ. та $204 \pm 0,0014$ при контрольних показниках – $0,123 \pm 0,0014$, $p < 0,001$ відповідно). Іншими дослідниками також підтверджено прямий вплив гіпоксії на зростання апоптозу [48, 252, 257], яка швидко виснажує енергетичні системи клітини та запускає механізм її смерті [13, 22, 23, 101]. Подібні результати, але у структурах хоріальних ворсин плаценти, було отримано В. М. Костюком [72]. За ними ЗДАВ відбувається підвищення апоптотичних процесів у цитоплазмі клітин периферійного цитотрофобласта. Зміни в апоптотичних процесах продемонстровано і в дослідженнях І. А. Анчевої [7], зі зростанням апоптотичного індексу в ядрах децидуальних клітин і клітинах ворсин хоріона. Запуск програми апоптозу при ЗДАВ у структурах плаценти може ініціюватися великою кількістю різноманітних стимулів з активацією системи аспартатспецифічних цистеїнових протеаз так званих каспаз [48, 244], які конституційно експресовані в клітинах і являються неактивними зимогенами. Після того, як під впливом стимуляторів апоптозу каспази підлягають димеризації або специфічному протеолізу, вони стають активними і за допомогою каскаду протеолітичних реакцій ініціюють розвиток усіх біохімічних і морфологічних змін, які і являють собою картину апоптозу [48].

За даними багатьох науковців одна з причин підвищення апоптозу в плаценті під час вагітності – це запальні процеси, викликані різними екзо- чи ендогенними чинниками [172, 189], що частково підтверджують наші

результати дослідження. Зокрема, у спостереженнях гострого базального децидуїту виявлялась незначна, проте без статистичної значимості тенденція до зростання показників оптичної густини забарвлення проапоптотичного протеїну ВАХ у децидуоцитах базальної пластинки плаценти ($0,125 \pm 0,0013$ відн. од. опт. густ., де $p > 0,05$). Додатково ми показали, що при коморбідній ЗДАВ не відбувається зростання процесів апоптозу згідно мікроденситометричних показників ($128 \pm 0,0016$ відн. од. опт. густ., $p > 0,05$). Проте у синцитіотрофобласті хоріальних ворсинок плаценти, як при гострому хоріоамніоніті ($0,206 \pm 0,0013$, при контрольних показниках – $0,121 \pm 0,0014$, $p < 0,001$), так і базальному децидуїті ($0,212 \pm 0,0014$, де $p < 0,001$) зі статистичною вірогідністю підвищувалися показники оптичної густини імуногістохімічного забарвлення та ще більше при запаленні на тлі ЗДАВ (при гострому ХА – $0,234 \pm 0,0012$ відн. од. опт. густ. ($p < 0,001$); при гострому БД – $0,236 \pm 0,0016$ ($p < 0,001$). Коливання показників при гострому перебігу БД та ХА у структурах плаценти могли спричинитися ще одним механізмом реалізації апоптозу, який відбувається нерідко за участю цитотоксичних лейкоцитів. В основі механізму – експозиція на поверхні клітини фосфотидилсерину – фосфоліпиду, окиснення якого зумовлює те, що особлива транспортна АТФаза не впізнає фосфоліпід і переносить його на зовнішню мембрану. Далі така клітина розпізнається лейкоцитами, які починають виділяти поблизу клітини-мішені білки. Полімери білка перфорины утворюють в цитоплазматичній мембрані клітини-мішені трансмембранні канали, через які всередину надходять гранзими (суміш серинових протеаз), здатні запускати апоптоз через перетворення прокаспаз на каспазу. Крім того, зазначено, що лейкоцити здатні за допомогою спеціального трансмембранного дихального ланцюга плазматичної мембрани утворювати супероксиди та бомбардувати ними клітину-мішень, стимулюючи апоптоз, зокрема через окиснення фосфатидилсерина плазматичної мембрани клітини-мішені [95].

При хронічному БД у децидуоцитах базальної пластинки плаценти отримано дані ($0,241 \pm 0,0014$ відн. од. опт. густ., $p < 0,001$), які узгоджуються з результатами дослідження А. В. Гошовської та співавт. [26], у яких при імуногістохімічному вивченні протеїну Вах у децидуоцитах базальної пластинки плаценти вагітних, інфікованих мікобактеріями туберкульозу, спостерігалася різка інтенсифікація процесів апоптозу в даних структурах. Окрім цього, при вивченні нами впливу побічної ЗДАВ при запаленні привернули увагу високі статистично достовірні показники порівняно з усіма групами дослідження ($0,254 \pm 0,0016$ відн. од. опт. густ., $p < 0,001$). Щодо синцитіотрофобласта хоріальних ворсинок плаценти як при хронічному хоріоамніоніті, так і базальному децидуїті середні показники оптичної густини забарвлення на протеїн Вах варіювали до більших значень (при хоріоамніоніті – $0,218 \pm 0,0015$ ($p < 0,001$), базальному децидуїті – $0,224 \pm 0,0016$ ($p < 0,001$)) та ще більше – при поєднаній ЗДАВ ($0,230 \pm 0,0014$ ($p < 0,001$) та $0,249 \pm 0,0015$ ($p < 0,001$) відповідно).

Підвищення процесів апоптозу при хронічному запаленні, переважно зумовлене зростаючою тяжкістю запалення та підвищеною активністю вільнорадикальних процесів, які підтверджуються отриманими нами раніше даними про високий рівень нітропероксидів у децидуоцитах базальної пластинки плаценти при хронічному базальному децидуїті, які посилено починають індукувати апоптоз. При цьому побічний вплив залізодефіцитної анемії, з урахуванням ще більшої інтенсивності вільнорадикальних процесів, недостатнього транспорту кисню з виснаженням енергетичних систем клітини, більш інтенсивно запускає механізм апоптозу при хронічному базальному децидуїті.

Отже, провівши детальне морфологічне дослідження плаценти за допомогою органометричних, гістологічних, сучасних гістохімічних, хемілюмінесцентних та імуногістохімічних методів були встановлені морфо-функціональні особливості різних форм хоріоамніоніту та базального децидуїту на тлі ЗДАВ. Використання статистичних методів обробки

досліджуваного матеріалу допомогло провести детальний аналіз багатьох взаємозв'язків (чи їх відсутність) із високим ступенем достовірності отриманих результатів. Зокрема, встановлено, що одним із ключових факторів формування морфологічних особливостей запалення плаценти на тлі залізодефіцитної анемії вагітних є інтенсифікація вільнорадикальних процесів в осередках запалення та поза їх межами, при вивченні яких помітили певну закономірність проявів. Так, при гострому, а також хронічному хоріоамніоніті та базальному децидуїті при коморбідній анемії вагітних зростає хемілюмінесцентне світіння нітропероксидів з наступною інтенсифікацією процесів окиснювальної модифікації білків та обмеженого протеолізу, що підтверджується отриманими кількісними показниками. Найбільш вираженіше ці процеси проявляються при хронічному запаленні хоріальної та базальної пластинок плаценти, а найуразливішими є ендотеліоцити кровоносних судин та фібриноїд. Посилені вільнорадикальні процеси в ендотеліоцитах кровоносних судин, в свою чергу, викликає надмірну екскрецію фактору von Willebrand з вказаних клітин який є маркером ендотеліальної дисфункції, що виявляється у збільшенні показників оптичної густини імуногістохімічного забарвлення. Виявленні зростання Вах-залежного апоптозу у децидуоцитах та у синцитіотрофобласті хоріальних ворсинок також можна пов'язати з активацією вільнорадикальних процесів та може слугувати обґрунтуваннями зменшення органометричних параметрів маси, товщини та об'єму.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі представлено узагальнення та нове вирішення актуальної науково-практичної задачі медицини – удосконалення патологоанатомічної діагностики гострих і хронічних форм хоріоамніоніту та базального децидуїту з визначенням в осередках запалення хоріальної або базальної пластинок плаценти та за їх межами (хоріальні ворсинки) морфологічних відмінностей, які спричинені залізодефіцитною анемією вагітних, із уточненням окремих аспектів патогенезу запального процесу в плаценті, зокрема, стосовно деяких особливостей вільнорадикальних процесів.

1. Залізодефіцитна анемія спричиняє появу окремих морфологічних відмінностей у певних структурах плаценти залежно від форми запалення, але анемія не впливає на склад запального інфільтрату. Зокрема, як при залізодефіцитній анемії, так і без неї в осередках запалення при гострому хоріоамніоніті та гострому базальному децидуїті спостерігається накопичення поліморфно-ядерних лейкоцитів з присутністю поодиноких лімфоцитів та набряком сполучної тканини, а при хронічному хоріоамніоніті та хронічному базальному децидуїті відзначається переважання лімфоцитів з домішками макрофагів, при цьому набряк строми є нерівномірним.

2. При гострому хоріоамніоніті під впливом залізодефіцитної анемії вагітних у плаценті з'являються морфологічні відмінності, які проявляються на гістологічному та органних рівнях структурної організації матерії. Порівняно з групою дослідження без залізодефіцитної анемії вагітних характерними є зростання процесів обмеженого протеолізу у середньому на 6 % ($p < 0,001$) в ендотеліюцитах кровоносних судин в осередках запалення за відсутності такої реакції щодо інтенсивності хемілюмінесценції нітропероксидів та окиснювальної модифікації білків; підсилення оптичної густини імуногістохімічного забарвлення у середньому на 19 % ($p < 0,001$) в

ендотеліоцитах та на 21 % ($p < 0,001$) у фібриноїді хоріальної пластинки на фактор von Willebrand; зростання у середньому на 17 % ($p < 0,001$) питомого об'єму колагенових волокон у мезодермальній основі хоріальної пластинки; підвищення у середньому на 14 % ($p < 0,001$) оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на проапоптотичний протеїн Вах у синцитіотрофобласті хоріальних ворсинок плаценти. Водночас у цих плацентах спостерігається зниження маси, товщини та об'єму у середньому на 6 % ($p < 0,001$), 13 % ($p = 0,01$) та 17 % ($p = 0,009$) відповідно порівняно зі спостереженнями гострого хоріоамніоніту без анемії у вагітних.

3. Морфологічні відмінності хронічного хоріоамніоніту у вагітних із залізодефіцитною анемією порівняно з запаленням без анемії полягають насамперед у: підвищенні в осередках запалення у середньому на 19 % ($p = 0,001$) інтенсивності хемілюмінесценції нітропероксидів в ендотеліоцитах кровоносних судин; інтенсифікації в них процесів окиснювальної модифікації білків (на 13 %, $p < 0,001$) та обмеженого протеолізу у середньому на 9 % ($p < 0,001$), а також інтенсифікації у середньому на 21 % ($p < 0,001$) процесів окиснювальної модифікації білків та на 7 % ($p < 0,001$) процесів обмеженого протеолізу у фібриноїді хоріальної пластинки; підвищенні у середньому на 15 % ($p < 0,001$) питомого об'єму колагенових волокон у мезодермальній основі хоріальної пластинки та оптичної густини в мезодермальній основі амніона (на 5 %, $p < 0,001$), в спонгіозному шарі (на 5 %, $p < 0,001$) та в мезодермальній основі хоріальної пластинки (на 3 %, $p = 0,03$); підвищенням оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на фактор von Willebrand у ендотеліоцитах кровоносних судин на 17 % ($p < 0,001$) та у фібриноїді на 8 % ($p = 0,009$). Зазначені зміни супроводжуються збільшенням у середньому на 5 % ($p < 0,001$) оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на проапоптотичний протеїн Вах у синцитіотрофобласті хоріальних ворсинок плаценти. При цьому відзначається зменшення у середньому на 8 % ($p < 0,001$) маси, на 15% ($p = 0,001$) – товщини та на 17 % ($p < 0,001$) – об'єму плаценти.

4. Гострий базальний децидуїт у жінок із залізодефіцитною анемією вагітних характеризується низкою відмінностей порівняно зі спостереженнями без анемії, які необхідно брати до уваги під час патологоанатомічної діагностики, зокрема: в осередках запалення у децидуоцитах базальної пластинки у середньому фіксується підвищення на 17 % ($p=0,004$) хемілюмінесценції нітропероксидів і на 3 % ($p=0,014$) – інтенсифікація процесів окиснювальної модифікації білків; в ендотеліоцитах кровоносних судин спостерігається зростання у середньому на 13 % ($p<0,001$) процесів обмеженого протеолізу й на 3 % ($p=0,005$) підвищується оптична густина імуногістохімічного забарвлення на фактор von Willebrand, яка також і у фібриноїді базальної пластинки збільшується у середньому на 16 % ($p=0,001$); відзначається збільшення на 43 % ($p<0,001$) питомого об'єму колагенових волокон і на 6 % ($p=0,002$) їх оптичної густини. Одночасно з вказаними процесами у синцитіотрофобласті хоріальних ворсинок фіксується зростання у середньому на 11 % ($p<0,001$) оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на проапоптотичний протеїн Вах. При цьому реєструється зниження маси плаценти на 4 % ($p=0,001$), товщини плаценти – на 12 % ($p=0,001$) та її об'єму – на 14 % ($p<0,001$) порівняно зі спостереженнями без анемії.

5. Для хронічного базального децидуїту при залізодефіцитній анемії вагітних порівняно зі спостереженнями такого виду запалення без наявної анемії відмінними характеристиками є підвищення у вогнищах запалення у середньому на 24 % ($p<0,001$) інтенсивності хемілюмінесценції нітропероксидів у ендотеліоцитах кровоносних судин та на 26 % ($p=0,002$) – у фібриноїді; зростання процесів окиснювальної модифікації білків та обмеженого протеолізу в ендотеліоцитах кровоносних судин, фібриноїді та децидуоцитах (на 13 % ($p=0,022$), 23 % ($p<0,001$), 13 % ($p<0,001$) та 15 % ($p<0,001$), 5 % ($p<0,001$) та 8 % ($p<0,001$) відповідно); збільшення питомого об'єму (на 85 %, $p<0,001$) та оптичної густини (на 14 %, $p<0,001$) колагенових волокон. Також в ендотеліоцитах кровоносних судин в осередках запалення відзначається

підвищення оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на фактор von Willebrand на 4 % ($p=0,005$) і на 6 % ($p=0,03$) – у фібриноїді базальної пластинки; на 5 % ($p<0,001$) зростає оптична густина імуногістохімічного забарвлення на проапоптотичний протеїн Вах у децидуоцитах і поза межами запалення на 11 % ($p<0,001$) у синцитіотрофобласті хоріальних ворсинок. Водночас з описаними змінами відбувається зменшення маси плацент на 6 % ($p<0,001$), товщини – на 10 % ($p<0,03$), об'єму – на 7 % ($p<0,04$).

6. Ключовим фактором у формуванні морфологічних відмінностей запалення при залізодефіцитній анемії вагітних насамперед є властива їй інтенсифікація вільнорадикальних процесів, що морфологічно виявляється у зростанні хемілюмінесценції нітропероксидів та інтенсифікації процесів окиснювальної модифікації білків, які автоматично призводять до зростання обмеженого протеолізу білків, що, в свою, чергу активізує процеси Вах-залежного апоптозу. Зазначені вільнорадикальні процеси найбільшою мірою стосуються ендотеліоцитів кровоносних судин, викликаючи їхню дисфункцію, що також підтверджується змінами щодо фактора von Willebrand у цих клітинах. Однак вільнорадикальні процеси охоплюють й інші структури плаценти, насамперед – фібриноїд. З активізацією апоптозу трофобласта та децидуоцитів варто пов'язати зміни органометричних показників плаценти, особливо – її маси та об'єму.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Албота ОМ. Деякі аспекти залізодефіцитної анемії у вагітних. Здоровье женщины. 2015;8:82–4.
2. Алексеев АВ, Проскурнина ЕВ, Владимиров ЮА. Определение антиоксидантов методом активированой хемилюминесценции с использованием 2,2'-АЗО-Бис (2-Амидинопропана). Вестник Московского университета. Серия 2: Химия. 2012;53(3):187–93.
3. Аношина ТМ. Морфологічні та імуногістохімічні особливості структур плаценти при ВІЛ-асоційованій герпесвірусній інфекції. Актуальні проблеми сучасної медицини. 2016;16(3):141–5.
4. Антипкин ЮГ, Задорожная ТД, Парницкая ОИ, редакторы. Патология плаценты (современные аспекты): монография. Киев: Атопоя; 2016. 127 с.
5. Анчева ИА. Клиническая характеристика плацентарной дисфункции с позиции тенденций современного акушерства (обзор литературы). Буковинський медичний вісник. 2016;20(1):196–9.
6. Анчева ІА. Адаптаційні резерви організму при вагітності, ускладненій латентним залізодефіцитом. Здоровье женщины. 2014;10:79–81.
7. Анчева ІА. Дисфункція плаценти при анемії вагітних: діагностика, ведення вагітності і профілактика [дисертація]. Одеса; 2015. 271 с.
8. Анчева ІА. Імуногістохімічні особливості васкулярно-ендотеліального чинника росту (VEGF) в плаценті у жінок з дисфункцією плаценти та анемією. Експериментальна і клінічна медицина. 2014;4:11–4.
9. Багрій ММ, Діброва ВА, редактори. Методики морфологічних досліджень: монографія. Вінниця: Нова Книга; 2016. 328 с.
10. Бакуев ММ, Магомедов КК, Шахбанов РК, Магомедов МА. Состояние антиоксидантных систем при различных патологических

состояниях организма. Известия Дагестанского государственного педагогического университета. Естественные и точные науки. 2012;3:62–7.

11. Борисов ДБ, Юдин СВ, Крылов ОВ, Марков ББ, Истомина НА. Снижение периоперационной кровопотери при эндопротезировании крупных суставов. Общая реаниматология. 2011;7(4):34–7. doi: <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2011-4-34>

12. Боровкова ЛВ, Волкова СА, Воронина ИД. Роль железодефицитной анемии в генезе плацентарной недостаточности (обзор). Медицинский альманах. 2010;4:97–101.

13. Боровкова НВ, Валетова ВВ, Тимербаев ВХ, Казаков МГ, Никитина ОВ, Хватов ВБ. Реакция лейкоцитов и апоптоз лимфоцитов периферической венозной крови как маркер тканевой ишемии при острой массивной кровопотере. Общая реаниматология. 2013;9(4):18–22. doi: <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2013-4-18>

14. Булавенко ОВ, Кливак ВВ, Ситник ВІ. Роль морфологічних змін плаценти в розвитку плацентарної дисфункції при вагітності, ускладнень герпетичною інфекцією. Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології. 2013;2:92–4.

15. Вериго ЯИ, Демко ИВ, Петрова ММ, Собко ЕА, Мамаева МГ. Фактор Виллебранда и его роль в дисфункции эндотелия при ишемической болезни сердца. Сибирское медицинское обозрение. 2014;5:23–8.

16. Веропотвелян НП, Веропотвелян ПН, Цехмистренко ИС, Бондаренко АА, Усенко ТВ. Морфологическая классификация повреждений плаценты. Здоровье женщины. 2016;8:63–71. doi: 10.15574/HW.2016.114.63

17. Веропотвелян НП, Веропотвелян ПН, Цехмистренко ИС, Бондаренко АА, Усенко ТВ. Морфологическая классификация повреждений плаценты. Здоровье женщины. 2016;8:63-71. doi: <https://doi.org/10.15574/10.15574/HW.2016.114.63>

18. Веропотвелян ПН, Веропотвелян НП, Гужевская ИВ. Цитокины в системе мать-плацента-плод при физиологическом и патологическом течении беременности. *Здоровье женщины*. 2013;1:126–9.
19. Владимиров ЮА, Проскурина ЕВ, Измайлов ДЮ. Кинетическая хемилюминесценция как метод изучения реакций свободных радикалов. *Биофизика*. 2011;56(6):1081–90.
20. Волкова ЕВ, Копылова ЮВ. Роль сосудистых факторов роста в патогенезе плацентарной недостаточности. *Акушерство, гинекология и репродукция*. 2013;7(2):29–33.
21. Гарвасюк ОВ, Давиденко ІС. Гістохімічні особливості обмеженого протеолізу та окиснювальної модифікації білків у трофобласті плаценти при поєднанні передчасного дозрівання хоріального дерева та залізодефіцитної анемії вагітних. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2017;16(4):24-9. doi: <https://doi.org/10.24061/1727-4338.XVI.4.62.2017.5>
22. Герасимов ЛВ, Карпун НА, Пирожкова ОС. Избранные вопросы патогенеза и интенсивного лечения тяжелой сочетанной травмы. *Общая реаниматология*. 2012;8(4):111–7. doi: <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2012-4-111>
23. Герасимов ЛВ, Саморуков ВЮ, Мороз ВВ, Иванова ГП. Применение эритропоэтина у больных с травмой и кровопотерей. *Общая реаниматология*. 2012;8(5):11–8. doi: <https://doi.org/10.15360/1813-9779-2012-5-11>
24. Глуховец БИ, Глуховец НГ. Патология последа. Санкт-Петербург: Грааль; 2002. 448 с.
25. Гошовська АВ, Давиденко ІС, Гошовський ВМ, Гарвасюк ОВ. Хемилюмінесцентне визначення нітропероксидів у структурах хоріальних ворсинок плаценти. В: *Materiály IX mezinár. vědecko–praktic. konf. Zprávy vědecké ideje–2013; Díl 17 Lékařství; 2013 Říj 27 – Lis 05; Praha. Praha: Education and Science s.r.o.; 2013, c. 3–6.*

26. Гошовська АВ, Польова СП, Давиденко ІС. Імуногістохімічні дослідження протеїну ВАХ у децидуоцитах базальної пластинки плацент вагітних, інфікованих мікобактеріями туберкульозу. Буковинський медичний вісник. 2007;11(3):23–6.

27. Гошовська АВ. Стан інвазивного цитотрофобласта базальної пластинки плаценти вагітних, інфікованих мікобактерією туберкульозу. Клінічна анатомія та оперативна хірургія. 2009;8(1):33–6.

28. Губский ЮИ. Смерть клетки: свободные радикалы, некроз, апоптоз: монография. Винница: Нова Книга; 2015. 360 с.

29. Давиденко ІС, Грицюк МІ, Давиденко ОМ. Методика кількісної оцінки результатів гістохімічної реакції з Бромфеноловим синім для встановлення співвідношення між аміно- та карбоксильними групами в білках. Вісник морської медицини. 2017;4:141–8.

30. Давиденко ІС, Давиденко ОМ, Гарвасюк ОВ, Мироник ОВ, Іліка ВВ, Попович АІ, та ін., винахідники; Вищий державний навчальний заклад України «Буковинський державний медичний університет», патентовласник. Спосіб дослідження окиснювальної модифікації білків в лейкоцитах. Патент України № 116109. 2017 Тра 10.

31. Давиденко ІС, Давиденко ОМ, Іліка ВВ. Спосіб дослідження окиснювальної модифікації білків в лейкоцитах. Перелік наукової (науково-практичної) продукції, призначеної для впровадження досягнень медичної науки у сфері охорони здоров'я. 2018;4:257–8.

32. Давиденко ІС, Давиденко ОМ. Алгоритм одержання показника «R/B» (для вимірювання окиснювальної модифікації білків за гістохімічними та цитохімічними препаратами) за допомогою комп'ютерної програми ImageJ (W.Rasband, National Institute of Health, USA, 2015). In: Materials of the XII International Scientific and Practical Conference Science and Civilization – 2016; 2016 Jan 30 – Feb 07; Sheffield. Sheffield: Science and Education LTD. 2016, p. 47–9.

33. Давиденко ІС, Давиденко ОМ. Хемілюмінесцентне визначення нітропероксидів у цитоплазмі синцитіотрофобласта хоріальних ворсин плаценти при гнійному хоріонамніоніті. В: Матеріали VIII міжнар. конгресу патологів України Сучасні проблеми патологічної анатомії; 2008 Тра 21-23; Полтава. Полтава; 2008, с. 26-7.

34. Давиденко ІС. Гіпотеза про пристосувальне значення зупинки росту плаценти у товщину в процесі розвитку. Клінічна анатомія та оперативна хірургія. 2004;3(3):67-8.

35. Давиденко ІС. Заходи стандартизації гістохімічної методики на окиснювальну модифікацію білків. Український медичний альманах. 2013;16(3):180-1.

36. Давиденко ІС. Імуногістохімічне дослідження фактору Віллебранда в окремих структурах плаценти. In: Materials of the X International Scientific and Practical Conference Modern European Science; 2014. Sheffield. Sheffield: Science and education LTD; 2014, p. 92–5.

37. Давиденко ІС. Імуногістохімічний розподіл протеїнів Вах та Bcl-2 у клітинах Гофбауера плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних. Буковинський медичний вісник. 2005;9(3):88–91.

38. Давиденко ІС. Імуногістохімічні дані щодо фактору Віллебранда в структурах плаценти при передчасних та термінових пологах. В: Кравченко ОВ, редактор. Матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю: до 100-річчя з дня народження проф. Борими Т.В. Перспективні напрямки розвитку сучасної перинатології; 2014 Жов 16; Чернівці. Чернівці: Медуніверситет; 2014, с. 97-100.

39. Давиденко ІС. Модифікація гістохімічної методики фарбування фібрину та колагенових волокон у плаценті. Буковинський медичний вісник. 2001;5(1):147–50.

40. Давиденко ІС. Органометричні параметри плаценти при поєднанні залізодефіцитної анемії вагітних та хронічної плацентарної недостатності. Клінічна анатомія та оперативна хірургія. 2005;4(4):27–9.

41. Давиденко ІС. Патоморфологічні аспекти формування синдрому плацентарної недостатності при залізодефіцитній анемії вагітних [дисертація]. Чернівці; 2005. 351 с.

42. Давиденко ІС. Фактор von Willebrand в ендотеліоцитах різних типів хоріальних ворсинок плаценти (імуногістохімічне дослідження). В: Бойчук ТМ, Іващук ОІ, Безрук ВВ, редактор. Матеріали 96-ї підсумкової наукової конференції професорсько-викладацького складу Буковинського державного медичного університету; 2015 Лют 16, 18, 23; Чернівці. Чернівці: Медуніверситет; 2015, с. 10.

43. Жамбалова БА, Носикова ИН, Малушенко СВ, Максина АГ, Ганковская ЛВ, Доброхотова ЮЭ, и др. Показатели оксидативного стресса у здоровых беременных женщин и беременных женщин с урогенитальной инфекцией на ранних сроках гестации. Акушерство и гинекология. 2017;9:40–6. doi: <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2017.9.40-6>

44. Ждан ВМ, Шилкіна ЛМ, Бараніна МЮ, Кітура ЄМ, Ткаченко МВ, Іваницький ІВ. Стандарти діагностики та лікування в загальнолікарській практиці. Внутрішні хвороби: навч. посіб. Полтава: АСМІ; 2012. 402 с.

45. Жук СІ, Пехньо ТВ, Бикова ОГ. Залізодефіцитна анемія вагітних. Здоровье женщины. 2014;8:40–3.

46. Заболотна АВ. Патоморфологічні особливості плацент у породілей з групи високого ризику розвитку плацентарної дисфункції. Здоровье женщины. 2015;9:85–7.

47. Заднипрный ИВ, Сатаева ТП. Морфо-функциональные изменения при перинатальной гипоксии и возможные пути их коррекции. Медико-биологический вестник. 2013;16(1 Ч 2):252–6.

48. Заднипрный ИВ, Третьякова ОС, Сатаева ТП. Перинатальная гипоксия как индуктор апоптоза кардиомиоцитов у новорожденных. Світ медицини та біології. 2014;1:169–76.

49. Замечник ТВ, Рогова ЛН. Гипоксия как пусковой фактор развития эндотелиальной дисфункции и воспаления сосудистой стенки

(обзор литературы). Вестник новых медицинских технологий. 2012;19(2):393–4.

50. Измайлов ДЮ, Демин ЕМ, Владимиров ЮА. Определение активности антиоксидантов методом измерения кинетики хемилюминесценции. Фотобиология та фотомедицина. 2011;7(2):70–6.

51. Илика ВВ, Давыденко ИС. Изучение процессов окислительной модификации белков с оценкой соотношения между аминок- и карбоксильными группами при воспалении плаценты в сочетании с железодефицитной анемией беременных. Наука и здравоохранение. 2016;2(Спецвып):82.

52. Илика ВВ. Апоптоз в децидуоцитах базальной пластинки плаценты при базальном децидуите в сочетании с железодефицитной анемией беременных. Проблемы биологии и медицины. 2018;2,1:318.

53. Илика ВВ. Морфологические подходы к измерению уровня фактора von Willebrandt в эндотелиоцитах кровеносных сосудов хориальной пластинки плаценты при воспалении в сочетании с железодефицитной анемией беременных. В: Материалы XVII междунар. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых и II Форума молодеж. науч. обществ Студенческая медицинская наука XXI века. II Форум молодежных научных обществ; 2017 Ноя 15–16; Витебск. Витебск: ВГМУ; 2017. Ч 1, с. 298.

54. Илика ВВ. Сравнительная характеристика процессов окислительной модификации белков в фибриноиде и эндотелиоцитах кровеносных сосудов базальной пластинки плаценты при хроническом базальном децидуите в сочетании с железодефицитной анемией беременных. В: Шамсиев АМ, редактор. Материалы 70 науч. конф. студентов-медиков с междунар. участием Актуальные проблемы современной медицины; 2016 Май 27; Самарканд. Самарканд; 2016, с. 265–6.

55. Іліка ВВ, Давиденко ІС, Давиденко ОМ. Гістохімічна оцінка процесів окиснювальної модифікації білків в ендотеліоцитах кровоносних судин базальної пластинки плаценти при поєднанні запалення посліду та

залізодефіцитної анемії вагітних. Клінічна та експериментальна патологія. 2016;15(4):54–7.

56. Іліка ВВ, Давиденко ІС, Давиденко ОМ. Гістохімічна оцінка процесів окиснювальної модифікації білків у децидуальних клітинах базальної пластинки плаценти при поєднанні запалення посліду та залізодефіцитної анемії вагітних. Буковинський медичний вісник. 2017;21(1):54–7. doi: <https://doi.org/10.24061/2413-0737.XXI.1.81.2017.11>

57. Іліка ВВ, Давиденко ІС, Давиденко ОМ. Гістохімічна оцінка процесів окиснювальної модифікації білків у фібриноїді базальної пластинки плаценти при поєднанні запалення посліду та залізодефіцитної анемії вагітних. Клінічна анатомія та оперативна хірургія. 2016;15(4):48–51. doi: <https://doi.org/10.24061/1727-0847.15.4.2016.95>

58. Іліка ВВ, Давиденко ІС. Імуногістохімічне вивчення проапоптотичного протеїну Вах в децидуоцитах базальної пластинки плаценти при базальному децидуїті в поєднанні з залізодефіцитною анемією вагітних. Український журнал медицини, біології та спорту. 2018;3(7):9–13. doi: <https://doi.org/10.26693/jmbs03.07.009>

59. Іліка ВВ, Давиденко ІС. Морфологічна оцінка вільнорадикальних процесів у структурі плаценти при хоріонамніонітах поєднаних із анемією вагітних. Українські медичні вісті. 2014;11(1–4):472.

60. Іліка ВВ, Давиденко ІС. Результати органометричного дослідження плацент та гістохімічного дослідження колагенових волокон при хоріонамніоніті та базальному децидуїті в поєднанні з залізодефіцитною анемією вагітних. Вісник морської медицини. 2018;3:109–16. doi: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.1450851>

61. Іліка ВВ, Давиденко ІС. Хемілюмінесцентне дослідження нітропероксидів у структурах плаценти при хоріонамніоніті та базальному децидуїті з залізодефіцитною анемією вагітних. Український журнал медицини, біології та спорту. 2018;3(5):36–40. doi: <https://doi.org/10.26693/jmbs03.05.036>

62. Іліка ВВ, Давиденко ІС. Хемілюмінесцентне дослідження нітропероксидів в осередку запалення при хоріонамніоніті та базальному децидуїті у вагітних із залізодефіцитною анемією. В: Кравченко ОВ, редактор. Матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю: до 100-річчя з дня народження проф. Борими Т.В. Перспективні напрямки розвитку сучасної перинатології; 2014 Жов 16; Чернівці. Чернівці: Медуніверситет; 2014, с. 108–11.

63. Іліка ВВ, Давиденко ОМ, Тащук КГ, Гарвасюк ОВ. Обґрунтування можливості застосування морфологічних методів дослідження для вивчення процесів вільнорадикального окиснення біополімерів (огляд літератури). Клінічна анатомія та оперативна хірургія. 2016;15(3):110–6. doi: <https://doi.org/10.24061/1727-0847.15.3.2016.86>

64. Іліка ВВ. Гістохімічна оцінка процесів окиснювальної модифікації білків в децидуоцитах базальної пластинки плаценти при гострому базальному децидуїті з залізодефіцитною анемією вагітних. В: Бойчук ТМ, Іващук ОІ, Безрук ВВ, редактори. Матеріали 97-ї наук. конф. професорсько-викладацького персоналу Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет»; 2016 Лют 15, 17, 22; Чернівці. Чернівці: 2016, с. 14.

65. Іліка ВВ. Гістохімічна оцінка процесів окиснювальної модифікації білків в децидуоцитах базальної пластинки плаценти при хронічному базальному децидуїті з залізодефіцитною анемією вагітних. В: Бойчук ТМ, Іващук ОІ, Безрук ВВ, редактори. Матеріали 97-ї наук. конф. професорсько-викладацького персоналу Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет»; 2016 Лют 15, 17, 22; Чернівці. Чернівці: 2016, с. 15.

66. Іліка ВВ. Гістохімічне вивчення процесів обмеженого протеолізу в фібриноїді хоріальної пластинки плаценти при поєднанні запалення посліду та залізодефіцитної анемії вагітних. В: Корда ММ, редактор. Матеріали 22

міжнар. медичного конгресу студентів та молодих вчених; 2018 Кві 23–25; Тернопіль. Тернопіль: Укрмедкнига; 2018, с. 311.

67. Іліка ВВ. Кількісне дослідження інтенсивності світіння нітропероксидів у ендотеліоцитах хоріальної пластинки плаценти при хоріонамніоніті в поєднанні з залізодефіцитною анемією вагітних. *BIMCO Journal*. 2018;2018:276.

68. Іліка ВВ. Кількісні параметри оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на фактор von Willebrand в ендотеліоцитах хоріальної пластинки плаценти при хоріонамніоніті у поєднанні з залізодефіцитною анемією вагітних. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2017;16(3 Ч 1):45

69. Іліка ВВ. Кількісні характеристики обмеженого протеолізу в ендотеліоцитах кровоносних судин плаценти при поєднанні запалення посліду та залізодефіцитної анемії вагітних. *Український журнал медицини, біології та спорту*. 2018;3(1):36–9. doi: <https://doi.org/10.26693/jmbs03.01.036>

70. Кишкун АА. Клиническая лабораторная диагностика: учеб. пособ. Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2010. 976 с.

71. Кобзарь АИ. Прикладная математическая статистика. Для инженеров и научных сотрудников. 2-е изд. испр. Москва: Физматлит; 2012. 816 с.

72. Костюк ВМ. Морфологічні аспекти вивчення апоптозу в екстравільозному цитотрофобласті при залізодефіцитній анемії вагітних. *Львівський медичний часопис*. 2008;14(4):53–7.

73. Костюк ВМ. Патоморфологія периферійного цитотрофобласта плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних [дисертація]. Івано-Франківськ; 2010. 162 с.

74. Кузьмак ІП, Дмухальська ЄБ, Підручна СР, Ярошенко ТЯ, Криницька ІЯ, Куліцька МІ. Окиснювальна модифікація білків у щурів різного віку за умов гострого отруєння токсинами блідої поганки. *Медична*

та клінічна хімія. 2017;19(1):114–8. doi: <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681X.2017.v0.i1.7680>

75. Курносенко ИВ, Долгушина ВФ, Пастернак АЕ. Воспалительные изменения в послеродовом периоде у женщин с преждевременными и своевременными родами. Современные проблемы науки и образования [Интернет]. 2016[цитировано 2018 Дек 21];3. Доступно: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24802>

76. Лагода НМ. Морфогенетичні основи фетоплацентарної недостатності при помірній анемії вагітних за даними морфометричного дослідження зрілої плаценти людини. Запорожский медицинский журнал. 2012;5:36–7.

77. Левкович МА, Нефедова ДД, Цатурян ЛД, Бердичевская ЕМ. Иммунологические аспекты проблемы невынашивания беременности. Современные проблемы науки и образования [Интернет]. 2016[цитировано 2018 Дек 21];3. Доступно: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24850>

78. Лисица АВ, Соодаева СК, Климанов ИА, Чучалин АГ. Динамика показателей окислительного стресса у больных, переносящих обострение бронхиальной астмы на фоне ингаляционной терапии липосомальными препаратами. Пульмонология. 2010;1:74–9.

79. Литвинець ЛЯ. Окислювальний стрес та антиоксидантний захист у дітей із різним ступенем контролю за бронхіальною астмою. Здоровье ребенка. 2013;8:71–4.

80. Лихачева АС, Редько ИИ. Внутриутробные острые вирусные инфекции у новорожденных: диагностика, клинические варианты течения. Таврический медико-биологический вестник. 2012;15(2 Ч 2):134–7.

81. Логутова ЛС, Ахвледиани КН, Петрухин ВА, Павлова ТВ, Мельников АП, Башакин НФ, и др. Фетоплацентарная недостаточность и перинатальные осложнения у беременных с железодефицитной анемией. Русский медицинский журнал. Мать и дитя. 2010;19:1215–9.

82. Лукашук-Федик СВ. Репродуктивне здоров'я студенської молоді як педагогічна проблема. Педагогічні науки: теорія, історія, інноваційні технології. 2012;2:113-22.

83. Макаренко МВ, Говсеев ДА, Поповский АС. Роль урогенитальной инфекции в прегравидарной подготовке женщин фертильного возраста. Здоровье женщины. 2015;1:118–21. doi: 10.15574/HW.2015.97.118

84. Малышев ИЮ, Круглов СВ, Лямина СВ. Гипоксия, воспаление и фенотипическая пластичность макрофагов: центральная роль HIF-1 и NFκB. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2012;56(3):42–50.

85. Маніщенкова ЮО, Орлова ОА, Шкала ЛВ. Окислювальна модифікація білків у хворих з коморбідною патологією. Український журнал екстремальної медицини імені ГО. Можаяєва. 2010;11(1):119–22.

86. Маринкин ИО, Айдагулова СВ, Жорник ТМ, Кулешов ВМ, Семченко ТО. Клинико-патоморфологическое исследование плацентарной недостаточности при латентной микст-инфекции. Медицина и образование в Сибири. 2012;4:24-5.

87. Марковский ВД, Сорокина ИВ, Гольева НВ, Куприянова ЛС. Руководство по гистологической, гистохимической и иммуногистохимической технике. Харьков; 2010. 152 с.

88. Меньщикова ЕБ, Зенков НК, Ланкин ВЗ, Бондарь ИА, Труфакин ВА. Окислительный стресс. Патологические состояния и заболевания. Новосибирск: Сибирское университетское издательство; 2017. 284 с.

89. Милованов АП, Брусиловский АИ. Стандартизация методов морфометрии плаценты человека. Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. 1986;91(8):72-8.

90. Муравлева ЛЕ, Молотов-Лучанский ВБ, Ключев ДА, Бакенова РА, Култанов ЮЖ, Танкибаева НА, и др. Окислительная модификация белков: проблемы и перспективы исследования. Современные проблемы науки и

образования [Интернет]. 2010[цитировано 2019 Янв 19];1:74–8. Доступно: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=1617>

91. Надишаускене РЙ. Избранные вопросы перинатологии. Литва: Litera; 2012. 656 с.

92. Нефедова ДД, Линде ВА, Левкович МА. Иммунологические аспекты беременности (обзор литературы). Медицинский вестник Юга России. 2013;4:16–21.

93. Низяева НВ. Гистологические критерии воспалительных изменений плодных оболочек плаценты и пуповины. Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2018;3:180-8.

94. Овчарук ВВ, Бойчук АВ, Хлібовська ОІ. Динаміка показників антиоксидантної системи та перекисного окиснення ліпідів у вагітних з дисфункцією плаценти під впливом комплексної терапії. Здобутки клінічної і експериментальної медицини. 2017;3:112–6.

95. Павлишин ГА, Сарапук ІМ, Юхимчук АТ. Сучасні погляди на роль нейтрофілів та їх апоптоз в патогенезі запальних процесів. Международный журнал педиатрии, акушерства и гинекологии. 2014;5(1):69–81.

96. Подольський ВлВ, Подольський ВВ. Перекисне окислення ліпідів як прояв оксидативного стресу в організмі жінок із змінами репродуктивного здоров'я на тлі соматоформних захворювань із порушеннями вегетативного гомеостазу. Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології. 2017;2:98–104. doi: 10.11603/24116-4944.2017.2.8095

97. Про удосконалення дитячої патолого-анатомічної служби. Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 19.08.2004 № 417 [Интернет]. Київ: МОЗ України; 2004[цитовано 2019 Кві 20]. Доступно: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0417282-04/stru>

98. Проскурина ЕВ, Полимова АМ, Созарукова ММ, Прудникова МА, Аметов АС, Владимиров ЮА. Кинетическая хемилюминесценция как метод оценки окислительного стресса при обследовании пациентов с

сахарным диабетом 2-го типа. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2016;161(1):149–52.

99. Проскурнина ЕВ, Шеримова АЕ, Полимова ПМ, Созарукова ММ, Владимирова ГА, Краснова ТН. Новые люминесцентные методы оценки окислительного стресса у больных с системными васкулитами. Технологии живых систем. 2016;13(8):26–36.

100. Рацина ЕВ, Говорин АВ, Соколова ЛА, Фетисова НВ. Динамика биомаркеров синтеза и деградации коллагена при остром трансмуральном инфаркте миокарда, осложненном аневризмой. / А. В. Рацина и др. Сибирский медицинский журнал (Иркутск). 2014;7:23–6.

101. Сергеева ТФ, Ширманова МВ, Загайнова ЕВ, Лукьянов КА. Современные методы исследования апоптотической гибели клеток (обзор). Современные технологии в медицине. 2015;7(3):172-82. doi: 10.17691/stm2015.7.3.21

102. Сологуб ТВ, Романцова МГ, Кремень НВ, Александрова ЛМ, Аникина ОВ, Суханов ДС, и др. Свободнорадикальные процессы и воспаление (патогенетические, клинические и терапевтические аспекты). Москва: Академия Естествознания; 2008. 142 с.

103. Сорокина СЭ. Анемии беременных в современных экологических условиях Беларуси: альтернативный взгляд на проблему. Медицинские новости. 2014;9:19–24.

104. Стрижаков А. Н., Игнатко И. В., Тимохина Е. В., Белоцерковцева Л. Д. Синдром задержки роста плода. Москва; 2012. 120 с.

105. Сулейманова ИГ, Соколова МЮ, Орджоникидзе НВ, Ильясова НА, Бурлев ВА. Возмещения дефицита железа у беременных с бактериально-вирусной инфекцией. Журнал Российского общества акушеров–гинекологов. 2006;3:11–4.

106. Сыровая АО, Леонтьева ФС, Новикова ИВ, Иванникова СВ. Биологическая роль свободных радикалов в развитии патологических состояний. Международный медицинский журнал. 2012;18(3):98–104.

107. Тастанова ГЕ, Миршарпов УМ, Саидалиходжаева СЗ. Состояние активности эндотелия сосудов и регуляторов ангиогенеза в системе мать-плацента-плод при осложненной беременности. Український морфологічний альманах. 2011;9(4):99–101.

108. Тюленєва ОА, Давиденко ІС, Завалецький ВМ. Методологічний аспект застосування імуногістохімічної методики на фактор von Willebrand на матеріалі матково-плацентарної ділянки та міометрію вагітних. Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина. 2015;5(4):95–100.

109. Франк ГА, Мальков ПГ, редакторы. Иммуногистохимические методы: руководство. Москва: Дако; 2011. 224 с.

110. Фролов МА, Слепова ОС, Ловпаче ДжН, Морозова НС. Маркёры апоптоза и методы изучения апоптотической гибели клеток. В: Егоров ЕА, Астахов ЮС, Еричев ВП, редакторы. Материалы XI междунар. конгресса Глаукома: теории, тенденции, технологии. 2013 Дек 6-7; Москва. Москва; 2013, с. 265–70.

111. Ховхаева ПА, Красный АМ, Тютюнник НВ, Сергунина ОА, Ганичкина МБ, Амирасланов ЭЮ, и др. Апоптоз в плаценте при преэклампсии. Медицинский совет. 2016;2:102–3. doi: <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2016-2-102-104>

112. Цинзерлинг ВА, Мельникова ВФ. Перинатальные инфекции. Вопросы патогенеза, морфологической диагностики и клинко-морфологических сопоставлений. Санкт-Петербург: Элби СПб; 2002. 352 с.

113. Чайка ВК, редактор. Инфекции в акушерстве и гинекологии: практическое руководство. Донецк: Альматео; 2006. 640 с.

114. Шендерюк ОП, Давиденко ІС, винахідники; Буковинський державний медичний університет, патентовласник. Спосіб вимірювання окиснювальної модифікації білків в структурах плаценти. Патент України № 13712. 2006 Кві 17.

115. Шендерюк ОП, Давиденко ІС. Деякі гістохімічні властивості білків трофобласта та ендотелію хоріальних ворсинок плаценти при запаленні посліду. Буковинський медичний вісник. 2012;16(4):181–4.

116. Шендерюк ОП, Давиденко ІС. Концентрація плацентарних гормонів у трофобласті хоріальних ворсинок плаценти при запаленні посліду (імуногістохімічне дослідження). Клінічна та експериментальна патологія. 2012;11(3 Ч 2):139–41.

117. Шендерюк ОП, Давиденко ІС. Окислювальна модифікація білків у цитоплазмі синцитіотрофобласта хоріальних ворсин плаценти при гнійному хоріонамніоніті (гістохімічні дані). Світ медицини та біології. 2008;2(Ч 3):88–90.

118. Шкурупий ВА, Ким ЛБ, Ковнер АВ, Черданцева ЛА. Соединительная ткань и проблемы ее патологических состояний. Бюллетень сибирской медицины. 2017;16(4):75–85. doi: <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2017-4-75-85>

119. Шустов ЕБ, Каркищенко НН, Дуля МС, Семенов ХХ, Оковитый СВ, Радько СВ. Экспрессия гипоксия-индуцибельного фактора VhIF1a как критерий развития гипоксии тканей. / Е. Б. Шустов и др. Биомедицина. 2015;4:4–15.

120. Щербина НА, Бородай ІС, Муавия Салем Насер Альмарадат. Иммунологические аспекты привычного невынашивания беременности при истмико-цервикальной недостаточности. Неонатология, хірургія та перинатальна медицина. 2015;5(1):79–80. doi: <https://doi.org/10.24061/2413-4260.V.1.15.2015.16>

121. Яворович МВ. Діагностична та прогностична значущість стану ендотеліальної функції та профіброгенних медіаторів у дітей, хворих на геморагічний васкуліт [дисертація]. Харків; 2017. 188 с.

122. Яковлева ЕА, Демина ОВ, Бабаджанян ЕН, Яковенко ЕА. Плацентарная дисфункция. Міжнародний медичний журнал. 2017;23(2):47–51.

123. A Lee K, Kim YW, Shim JY, Won HS, Lee PR, Kim A, et al. Distinct patterns of C4d immunoreactivity in placentas with villitis of unknown etiology, cytomegaloviral placentitis, and infarct. *Placenta*. 2013;34(5):432–5. doi: 10.1016/j.placenta.2013.02.003
124. Abe H, Ishikawa W, Kushima T, Nishimura T, Mori C, Onuki A, et al. Nitric oxide induces vascular endothelial growth factor expression in the rat placenta in vivo and in vitro. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2013;77(5):971–6. doi: 10.1271/bbb.120923
125. Abumaree MH, Hakami M, Abomaray FM, Alshabibi MA, Kalionis B, Al Jumah MA, et al. Human chorionic villous mesenchymal stem/stromal cells modify the effects of oxidative stress on endothelial cell functions. *Placenta*. 2017;59:74–86. doi: 10.1016/j.placenta.2017.05.001
126. Agarwal A, Aponte-Mellado A, Premkumar BJ, Shaman A, Gupta S. The effects of oxidative stress on female reproduction: a review. *Reprod Biol Endocrinol* [Internet]. 2012[cited 2019 Jan 16];10:49. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3527168/pdf/1477-7827-10-49.pdf> doi: 10.1186/1477-7827-10-49
127. Alwan NA, Hamamy H. Maternal Iron Status in Pregnancy and Long-Term Health Outcomes in the Offspring. *J Pediatr Genet*. 2015;4(2):111–23. doi: 10.1055/s-0035-1556742
128. Andraweera PH, Dekker GA, Roberts CT. The vascular endothelial growth factor family in adverse pregnancy outcomes. *Hum Reprod Update*. 2012;18(4):436–57. doi: 10.1093/humupd/dms011
129. Aouache R, Biquard L, Vaiman D, Miralles F. Oxidative stress in preeclampsia and placental diseases. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2018[cited 2018 Dec 11];19(5):E1496. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5983711/pdf/ijms-19-01496.pdf> doi: 10.3390/ijms19051496
130. Baczyk D, Audette MC, Coyaude E, Raught B, Kingdom JC. Spatiotemporal distribution of small ubiquitin-like modifiers during human

placental development and in response to oxidative and inflammatory stress. *J Physiol.* 2018;596(9):1587–600. doi: 10.1113/JP275288

131. Beauséjour A, Bibeau K, Lavoie JC, St-Louis J, Brochu M. Placental oxidative stress in a rat model of preeclampsia. *Placenta.* 2007;28(1):52–8. doi: 10.1016/j.placenta.2005.12.003

132. Benirschke K, Burton GJ, Baergen RN. Pathology of the human placenta. 6th ed. Berlin: Springer-Verlag; 2012. 974 p. doi: 10.1007 / 978-3-642-23941-0

133. Bernardo A, Ball C, Nolasco L, Moake JF, Dong JF. Effects of inflammatory cytokines on the release and cleavage of the endothelial cell–derived ultralarge von Willebrand factor multimers under flow. *Blood.* 2004;104(1):100–6. doi: 10.1182/blood-2004-01-0107

134. Bonney EA. Immune regulation in pregnancy: a matter of perspective? *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2016;43(4):679–98. doi: 10.1016/j.ogc.2016.07.004

135. Bos M, Nikkels PGJ, Cohen D, Schoones JW, Bloemenkamp KWM, Bruijn JA, et al. Towards standardized criteria for diagnosing chronic intervillitis of unknown etiology: A systematic review. *Placenta.* 2017;61:80–8. doi: 10.1016/j.placenta.2017.11.012

136. Braunwald E. Cardiovascular Science: Opportunities for Translating Research into Improved Care. *J Clin Invest.* 2013;123(1):6–10. doi: 10.1172/JCI67541

137. Burton GJ, Jauniaux E. Oxidative stress. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2011;25(3):287–99. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2010.10.016

138. Carr DJ, David AL, Aitken RP, Milne JS, Borowicz PP, Wallace JM, et al. Placental vascularity and markers of angiogenesis in relation to prenatal growth status in overnourished adolescent ewes. *Placenta.* 2016;46:79–86. doi: 10.1016/j.placenta.2016.08.076

139. Chen B, Longtine MS, Nelson DM. Hypoxia induces autophagy in primary human trophoblasts. *Endocrinology*. 2012;153(10):4946–54. doi: 10.1210/en.2012-1472
140. Chen J, Fu X, Wang Y, Ling M, McMullen B, Kulman J, et al. Oxidative modification of von Willebrand factor by neutrophil oxidants inhibits its cleavage by ADAMTS13. *Blood*. 2010;115(3):706–12. doi: 10.1182/blood-2009-03-213967
141. Chifenti B, Locci MT, Lazzeri G, Guagnozzi M, Dinucci D, Chiellini F, et al. Autophagy-related protein LC3 and Beclin-1 in the first trimester of pregnancy. *Clin Exp Reprod Med*. 2013;40(1):33–7. doi: 10.5653/term.2013.40.1.33
142. Choi JH, Lee HJ, Yang TH, Kim GJ. Effects of hypoxia inducible factors-1 α on autophagy and invasion of trophoblasts. *Clin Exp Reprod Med*. 2012;39(2):73–80. doi: 10.5653/term.2012.39.2.73
143. Cindrova-Davies T, Fogarty NME, Jones CJP, Kingdom J, Burton GJ. Evidence of oxidative stress-induced senescence in mature, post-mature and pathological human placentas. *Placenta*. 2018;68:15–22. doi: 10.1016/j.placenta.2018.06.307
144. Dabbs D, editor. *Diagnostic Immunohistochemistry. Theranostic and genomic applications*. 4th ed. Saunders; 2013. 960 p.
145. Denney JM, Nelson EL, Wadhwa PD, Waters TP, Mathew L, Chung EK, et al. Longitudinal modulation of immune system cytokine profile during pregnancy. *Cytokine*. 2011;53(2):170–7. doi: 10.1016/j.cyto.2010.11.005
146. Desch A, Strozyk EA, Bauer AT, Huck V, Niemeyer V, Wieland T, et al. Highly Invasive Melanoma Cells Activate the Vascular Endothelium via an MMP-2/Integrin α v β 5-Induced Secretion of VEGF-A. *Am J Pathol*. 2012;181(2):693–705. doi: 10.1016/j.ajpath.2012.04.012
147. Duarte S, Baber J, Fujii T, Coito AJ. Matrix metalloproteinases in liver injury, repair and fibrosis. *Matrix Biol*. 2015;44-46:147–56. doi: 10.1016/j.matbio.2015.01.004

148. Egal ES, Mariano FV, Blotta MH, Piña AR, Montalli VA, Almeida OP, et al. ICAM-1 expression on immune cells in chronic villitis. *Placenta*. 2014;35(12):1021–6. doi: 10.1016/j.placenta.2014.10.004
149. Eltzschig HK, Carmeliet P. Hypoxia and Inflammation. *N Engl J Med*. 2011;364(7):656–65. doi: 10.1056/NEJMr0910283
150. Eskild A, Haavaldsen C, Vatten LJ. Placental weight and placental weight to birthweight ratio in relation to Apgar score at birth: a population study of 522 360 singleton pregnancies. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2014;93(12):1302–8. doi: 10.1111/aogs.12509
151. Faas MM, de Vosa P. Uterine NK cells and macrophages in pregnancy. *Placenta*. 2017;56:44–52. doi: 10.1016/j.placenta.2017.03.001
152. Fallah MA, Myles VM, Krüger T, Sritharan K, Wixforth A, Varnik F, et al. Acoustic driven flow and lattice Boltzmann simulations to study cell adhesion in biofunctionalized μ -fluidic channels with complex geometry. *Biomicrofluidics* [Internet]. 2010[cited 2019 Apr 11];4(2):024106. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2917880/pdf/BIOMGB-000004-024106_1.pdf doi: 10.1063/1.3396449
153. Ferreira T, Rasband W. ImageJ. User Guide. ImageJ/Fiji 1.46 [Internet]. New York: National Institute of Health; 2012[cited 2018 Dec 21]. 198 p. Available from: <https://imagej.nih.gov/ij/docs/guide/user-guide.pdf>
154. Florczyk U, Czauderna S, Stachurska A, Tertilt M, Nowak W, Kozakowska M, et al. Opposite effects of HIF-1 α and HIF-2 α on the regulation of IL-8 expression in endothelial cells. *Free Radic Biol Med*. 2011;51(10):1882–92. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.08.023
155. Fomin AS, Koval OA, Semenov DV, Potapenko MO, Kuligina EV, Kit YuYa, et al. The analysis of biomedical markers of MCF-7 cells apoptosis induced by recombinant analog of lactaptin. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. 2012;38(1):77–82, doi: 10.1134/s1068162012010086
156. Gauron C, Rampon C, Bouzaffour M, Ipendey E, Teillon J, Volovitch M, et al. Sustained production of ROS triggers compensatory proliferation and is

required for regeneration to proceed. *Sci Rep* [Internet]. 2013[cited 2019 Feb 20];3:2084. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3694286/pdf/srep02084.pdf> doi: 10.1038/srep02084

157. Ghosh G, Subramanian IV, Adhikari N, Zhang X, Joshi HP, Basi D, et al. Hypoxia-induced microRNA-424 expression in human endothelial cells regulates HIF- α isoforms and promotes angiogenesis. *J Clin Invest*. 2010;120(11):4141–54. doi: 10.1172/JCI42980

158. Goerge T, Kleinerüschkamp F, Barg A, Schnaeker EM, Huck V, Schneider MF, et al. Microfluidic reveals generation of platelet-strings on tumor-activated endothelium. *Thromb Haemost*. 2007;98(2):283–6. doi: 10.1160/TH07-03-0163

159. Gomez-Lopez N, Romero R, Xu Y, Plazyo O, Unkel R, Than NG, et al. A Role for the Inflammasome in Spontaneous Labor at Term with Acute Histologic Chorioamnionitis. *Reprod Sci*. 2017;24(6):934–53. doi: 10.1177/1933719116675058

160. Granger C, Spittle AJ, Walsh J, Pyman J, Anderson PJ, Thompson DK, et al. Histologic chorioamnionitis in preterm infants: correlation with brain magnetic resonance imaging at term equivalent age. *BMC Pediatr* [Internet]. 2018[cited 2019 Mar 14];18(1):63. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5815189/pdf/12887_2018_Article_1001.pdf doi: 10.1186/s12887-018-1001-6

161. Haberichter SL. von Willebrand factor propeptide: biology and clinical utility. *Blood*. 2015;126(15):1753–61. doi: 10.1182/blood-2015-04-512731

162. Hammer Ø. PAST: Paleontological Statistics. Version 3.19. Reference Manual. Oslo: Natural History Museum University of Oslo; 2018. 259 p.

163. Hewitson TD, Darby IA, editors. *Histology Protocols. Series: Methods in Molecular Biology*. Humana Press; 2010. 225 p. doi: 10.1007/978-1-60327-345-9

164. Higgins RD, Saade G, Polin RA, Grobman WA, Buhimschi IA, Watterberg K, et al. Evaluation and Management of Women and Newborns With a Maternal Diagnosis of Chorioamnionitis: Summary of a Workshop. *Obstet Gynecol.* 2016;127(3):426–36. doi: 10.1097/AOG.0000000000001246
165. Huang RF, Wei YJ, Inbaraj BS, Chen BH. Inhibition of colon cancer cell growth by nanoemulsion carrying gold nanoparticles and lycopene. *Int J Nanomedicine.* 2015;10:2823–46. doi: 10.2147/IJN.S79107
166. Hubbi ME, Hu H, Kshitiz, Ahmed I, Levchenko A, Semenza GL. Chaperone-mediated Autophagy Targets Hypoxia-inducible Factor-1 α (HIF-1 α) for Lysosomal Degradation. *J Biol Chem.* 2013;288(15):10703–14. doi: 10.1074/jbc.M112.414771
167. Hubbi ME, Hu H, Kshitiz, Gilkes DM, Semenza GL. Sirtuin-7 Inhibits the Activity of Hypoxia-inducible Factors. *J Biol Chem.* 2013;288(29):20768–75. doi: 10.1074/jbc.M113.476903
168. Huck V, Niemeyer A, Goerge T, Schnaeker EM, Ossig R, Rogge P, et al. Delay of acute intracellular pH recovery after acidosis decreases endothelial cell activation. *J Cell Physiol.* 2007;211(2):399–409. doi: 10.1002/jcp.20947
169. Huck V, Schneider MF, Gorzelanny C, Schneider SW. The various states of von Willebrand factor and their function in physiology and pathophysiology. *Thromb Haemost.* 2014;111(4):598–609. doi: 10.1160/TH13-09-0800
170. Hussain T, Tan B, Yin Y, Blachier F, Tossou MC, Rahu N. Oxidative Stress and Inflammation: What Polyphenols Can Do for Us? *Oxid Med Cell Longev* [Internet]. 2016[cited 2018 Dec 19];2016:7432797. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5055983/pdf/OMCL2016-7432797.pdf> doi: 10.1155/2016/7432797
171. Ilika VV, Davydenko IS. Von Willebrand factor immunohistochemical staining quantitative optical density parameters in the endothelium and fibrinoid of the placenta during secundines inflammation and

concomitant iron deficiency anemia in gravidas. *Georgian Med News*. 2017;12:108–13.

172. Inaba H, Kuboniwa M, Bainbridge B, Yilmaz O, Katz J, Shiverick KT, et al. *Porphyromonas gingivalis* invades human trophoblasts and inhibits proliferation by inducing G1 arrest and apoptosis. *Cell Microbiol*. 2009;11(10):1517–32. doi: 10.1111/j.1462-5822.2009.01344.x

173. Jauniaux E, Burton G. The role of oxidative stress in placental-related diseases of pregnancy. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*. 2016;45(8):775–85. doi: 10.1016/j.jgyn.2016.02.012

174. Jeltsch M, Leppänen VM, Saharinen P, Alitalo K. Receptor Tyrosine Kinase-Mediated Angiogenesis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* [Internet]. 2013[cited 2018 Dec 11];5(9):a009183. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3753715/pdf/cshperspect-RTK-a009183.pdf> doi: 10.1101/cshperspect.a009183

175. Kallapur SG, Presicce P, Rueda CM, Jobe AH, Choungnet CA. Fetal immune response to chorioamnionitis. *Semin Reprod Med*. 2014;32(1):56–67. doi: 10.1055/s-0033-1361823

176. Kerk N, Strozyk EA, Pöppelmann B, Schneider SW. The mechanism of melanoma-associated thrombin activity and von Willebrand factor release from endothelial cells. *J Invest Dermatol*. 2010;130(9):2259–68. doi: 10.1038/jid.2010.136

177. Khaskheli MN, Baloch S, Sheeba A, Baloch S, Khaskheli FK. Iron deficiency anaemia is still a major killer of pregnant women. *Pak J Med Sci*. 2016;32(3):630–4. doi: 10.12669/pjms.323.9557

178. Kim CJ, Romero R, Chaemsaitong P, Chaiyasit N, Yoon BH, Kim YM. Acute Chorioamnionitis and Funisitis: Definition, Pathologic Features, and Clinical Significance Chaemsaitong. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. 2015[cited 2019 Apr 11];213(4Suppl):S29–S52. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4774647/pdf/nihms-719305.pdf> doi: 10.1016/j.ajog.2015.08.040

179. Kim CJ, Romero R, Chaemsaithong P, Kim JS. Chronic Inflammation of the Placenta: Definition, Classification, Pathogenesis, and Clinical Significance. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. 2015[cited 2019 Feb 22];213(4 Suppl):S53–S69. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4782598/pdf/nihms718814.pdf> doi: 10.1016/j.ajog.2015.08.041
180. Kim CJ, Romero R, Kusanovic JP, Yoo W, Dong Z, Topping V, et al. The Frequency, Clinical Significance, and Pathological Features of Chronic Chorioamnionitis: A Lesion Associated with Spontaneous Preterm Birth. *Mod Pathol*. 2010;23(7):1000–11. doi: 10.1038/modpathol.2010.73
181. Kim JY, Kim N, Zheng Z, Lee JE, Yenari MA. The 70kD heat shock protein protects against experimental traumatic brain injury. *Neurobiol Dis*. 2013;58:289–95. doi: 10.1016/j.nbd.2013.06.012
182. Kiouptsi K, Gambaryan S, Walter E, Walter U, Jurk K, Reinhardt C. Hypoxia impairs agonist-induced integrin $\alpha\text{IIb}\beta 3$ activation and platelet aggregation. *Sci Rep* [Internet]. 2017[cited 2019 Mar 25];7(1):7621. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5548784/pdf/41598_2017_Article_7988.pdf doi: 10.1038/s41598-017-07988-x
183. Konior A, Schramm A, Czesnikiewicz-Guzik M, Guzik TJ. NADPH oxidases in vascular pathology. *Antioxid Redox Signal*. 2014;20(17):2794–814. doi: 10.1089/ars.2013.5607
184. Koprivica Z, Djordjevic D, Vuletic M, Zivkovic V, Barudzic N, Andjelkovic N, et al. Von Willebrand Factor and Oxidative Stress Parameters in Acute Coronary Syndromes. *Oxid Med Cell Longev* [Internet]. 2011[cited 2019 Jan 17];2011:918312. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3166185/pdf/OXIMED2011-918312.pdf> doi: 10.1155/2011/918312

185. Krause BJ, Hanson MA, Casanello P. Role of nitric oxide in placental vascular development and function. *Placenta*. 2011;32(11):797–805. doi: 10.1016/j.placenta.2011.06.025
186. Kwan M, Hazan A, Zhang J, Jones RL, Harris LK, Whittle W, et al. Dynamic changes in maternal decidual leukocyte populations from first to second trimester gestation. *Placenta*. 2014;35(12):1027–34. doi: 10.1016/j.placenta.2014.09.018
187. Labarrere CA, Bammerlin E, Hardin JW, Dicarlo HL. Intercellular adhesion molecule-1 expression in massive chronic intervillitis: implications for the invasion of maternal cells into fetal tissues. *Placenta*. 2014;35(5):311–7. doi: 10.1016/j.placenta.2014.02.006
188. Laussmann MA, Passante E, Hellwig CT, Tomiczek B, Flanagan L, Prehn JH, et al. Proteasome inhibition can impair caspase-8 activation upon submaximal stimulation of apoptotic tumor necrosis factor-related apoptosis inducing ligand (TRAIL) signaling. *J Biol Chem*. 2012;287(18):14402–11. doi: 10.1074/jbc.M111.304378
189. Lee J, Giordano S, Zhang J. Autophagy, mitochondria and oxidative stress: cross-talk and redox signaling. *Biochem J*. 2012;441(2):523–40. doi: 10.1042/BJ20111451
190. Lee J, Romero R, Xu Y, Miranda J, Yoo W, Chaemsaitong P, et al. Detection of anti-HLA antibodies in maternal blood in the second trimester to identify patients at risk of antibody-mediated maternal anti-fetal rejection and spontaneous preterm delivery. *Am J Reprod Immunol*. 2013;70(2):162–75. doi: 10.1111/aji.12141
191. Lee J, Kim JS, Park JW, Park CW, Park JS, Jun JK, et al. Chronic chorioamnionitis is the most common placental lesion in late preterm birth. *Placenta*. 2013;34(8):681–9. doi: 10.1016/j.placenta.2013.04.014
192. Lee J, Romero R, Chaiworapongsa T, Dong Z, Tarca AL, Xu Y, et al. Characterization of the fetal blood transcriptome and proteome in maternal anti-fetal rejection: evidence of a distinct and novel type of human fetal systemic

inflammatory response. *Am J Reprod Immunol*. 2013;70(4):265–84. doi: 10.1111/aji.12142

193. Lee J, Romero R, Dong Z, Xu Y, Qureshi F, Jacques S, et al. Unexplained fetal death has a biological signature of maternal anti-fetal rejection: chronic chorioamnionitis and alloimmune anti-human leucocyte antigen antibodies. *Histopathology*. 2011;59(5):928–38. doi: 10.1111/j.1365-2559.2011.04038.x

194. Lee J, Romero R, Xu Y, Kim JS, Topping V, Yoo W, et al. A signature of maternal anti-fetal rejection in spontaneous preterm birth: chronic chorioamnionitis, anti-human leukocyte antigen antibodies, and C4d. *PLoS One* [Internet]. 2011[cited 2019 Jan 21];6(2):e16806. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3033909/pdf/pone.0016806.pdf> doi: 10.1371/journal.pone.0016806

195. Lelic M, Bogdanovic G, Ramic S, Brkicevic E. Influence of maternal anemia during pregnancy on placenta and newborns. *Med Arh*. 2014;68(3):184–7. doi: 10.5455/medarh.2014.68.184-187

196. Leslie K, Whitley GS, Herse F, Dechend R, Ashton SV, Laing K, et al. Increased Apoptosis, Altered Oxygen Signaling, and Antioxidant Defenses in First-Trimester Pregnancies with High-Resistance Uterine Artery Blood Flow. *Am J Pathol*. 2015;185(10):2731–41. doi: 10.1016/j.ajpath.2015.06.020

197. Li DY, Yu JC, Xiao L, Miao W, Ji K, Wang SC, et al. Autophagy attenuates the oxidative stress-induced apoptosis of Mc3T3-E1 osteoblasts. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2017;21(24):5548–56. doi: 10.26355/eurrev_201712_13991

198. Li Q, Yao B, Endler A, Chen L, Shibasaki F, Cheng H. Int6/eIF3e Placenta Silencing Promotes Angiogenesis in a Rat Model of Pre-eclampsia. *Sci Rep* [Internet]. 2018[cited 2019 Mar 15];8:8944. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5997673/pdf/41598_2018_Article_27296.pdf doi: 10.1038/s41598-018-27296-2

199. Li Q, Ren FQ, Yang CL, Zhou LM, Liu YY, Xiao J, et al. Anti-proliferation effects of isorhamnetin on lung cancer cells in vitro and in vivo. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2015;16(7):3035–42. doi: 10.7314/apjcp.2015.16.7.3035
200. Lopez B, Gonzalez A, Díez J. Circulating biomarkers of collagen metabolism in cardiac diseases. *Circulation*. 2010;121(14):1645–54. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.912774
201. Matsubara K, Higaki T, Matsubara Y, Nawa A. Nitric oxide and reactive oxygen species in the pathogenesis of preeclampsia. *Int J Mol Sci*. 2015;16(3):4600–14. doi: 10.3390/ijms16034600
202. Maymon E, Romero R, Bhatti G, Chaemsaihong P, Gomez-Lopez N, Panaitescu B, et al. Chronic inflammatory lesions of the placenta are associated with an up-regulation of amniotic fluid CXCR3: A marker of allograft rejection. *J Perinat Med*. 2018;46(2):123–37. doi: 10.1515/jpm-2017-0042
203. McCallum KC, Garsin DA. The Role of Reactive Oxygen Species in Modulating the *Caenorhabditis elegans* Immune Response. *PLoS Pathog* [Internet]. 2016[cited 2019 Jan 16];12(11):e1005923. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5104326/pdf/ppat.1005923.pdf> doi: 10.1371/journal.ppat.1005923
204. Mi Lee S, Romero R, Lee KA, Jin Yang H, Joon Oh K, Park CW, et al. The frequency and risk factors of funisitis and histologic chorioamnionitis in pregnant women at term who delivered after the spontaneous onset of labor. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2011;24(1):37–42. doi: 10.3109/14767058.2010.482622
205. Miller JL. Iron deficiency anemia: a common and curable disease. *Cold Spring Harb Perspect Med* [Internet]. 2013[cited 2018 Dec 23];3(7):a011866. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3685880/pdf/cshperspectmed-HMG-a011866.pdf> doi: 10.1101/cshperspect.a011866
206. Mojiri A, Nakhaii-Nejad M, Phan WL, Kulak S, Radziwon-Balicka A, Jurasz P, et al. Hypoxia results in upregulation and de novo activation of von

Willebrand factor expression in lung endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2013;33:1329–38. doi: 10.1161/ATVBAHA.113.301359

207. Mondal GC, Baske A, Biswas S. Morphological Changes of Placenta Associated with Maternal Anaemia. *Int J Life Sci Scienti Res.* 2017;3(5):1400–7. doi: 10.21276/ijlssr.2017.3.5.23

208. Murphy HS. Inflammation. In: Rubin R, Strayer DS, Rubin E, editors. *Rubin's Pathology: Clinicopathologic Foundations of Medicine.* China: Lippincott Williams & Wilkins; 2011, p. 47–82.

209. Murray AJ. Oxygen delivery and fetal-placental growth: beyond a question of supply and demand. *Placenta* [Internet]. 2012[cited 2019 Jan 29];33(Suppl 2):e16–e22. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0143400412002184?via%3Dihub> doi: 10.1016/j.placenta.2012.06.006

210. Nancy P, Tagliani E, Tay CS, Asp P, Levy DE, Erlebacher A. Chemokine gene silencing in decidual stromal cells limits T cell access to the maternal-fetal interface. *Science.* 2012;336(6086):1317–21. doi: 10.1126/science.1220030

211. Oggé G, Romero R, Lee DC, Gotsch F, Than NG, Lee J, et al. Chronic chorioamnionitis displays distinct alterations of the amniotic fluid proteome. *J Pathol.* 2011;223(4):553–65. doi: 10.1002/path.2825

212. Oh KJ, Kim SM, Hong JS, Maymon E, Erez O, Panaitescu B, et al. Twenty-four percent of patients with clinical chorioamnionitis in preterm gestations have no evidence of either culture-proven intra-amniotic infection or intra-amniotic inflammation. *Am J Obstet Gynecol.* 2017;216(6):604.e1–604.e11. doi: 10.1016/j.ajog.2017.02.035

213. Pereira L, Tabata T, Pettitt M, Fang-Hoover J. Congenital cytomegalovirus infection undermines early development and functions of the human placenta. *Placenta* [Internet]. 2017[cited 2019 Jan 18];59(Suppl 1):S8-S16. Available from:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0143400417302424?via%3Dihub> doi: 10.1016/j.placenta.2017.04.020

214. Pereira RD, De Long NE, Wang RC, Yazdi FT, Holloway AC, Raha S. Angiogenesis in the placenta: the role of reactive oxygen species signaling. *Biomed Res Int* [Internet]. 2015[cited 2019 Feb 10];2015:814543. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4325211/pdf/BMRI2015-814543.pdf> doi: 10.1155/2015/814543

215. Perrone S, Tataranno ML, Negro S, Longini M, Toti MS, Alagna MG, et al. Placental histological examination and the relationship with oxidative stress in preterm infants. *Placenta*. 2016;46:72–78. doi: 10.1016/j.placenta.2016.08.084

216. Piera-Velazquez S, Li Z, Jimenez SA. Role of endothelial-mesenchymal transition (EndoMT) in the pathogenesis of fibrotic disorders. *Am J Pathol*. 2011;179(3):1074–80. doi: 10.1016/j.ajpath.2011.06.001

217. Pijnenborg R, Brosens I, Romero R, editors. *Placental Bed Disorders: Basic Science and its Translation to Obstetrics*. 1st ed. Cambridge: Cambridge University Press; 2010. 320 p.

218. Pinegin B, Vorobjeva N, Pashenkov M, Chernyak B. The role of mitochondrial ROS in antibacterial immunity. *J Cell Physiol*. 2018;233(5):3745–54. doi: 10.1002/jcp.26117

219. Popovych AI, Davydenko IS, Davydenko OM. Histochemical evaluation of protein oxidative modification in fibrinoid of the placenta, depending on calcium deposits, combined with iron deficiency anemia of pregnancy. *Arch Balk Med Union*. 2018;53(2):200–4. doi: 10.31688/ABMU.2018.53.2.04

220. PrabhuDas M, Bonney E, Caron K, Dey S, Erlebacher A, Fazleabas A, et al. Immune mechanisms at the maternal-fetal interface: perspectives and challenges. *Nat Immunol*. 2015;16(4):328–34. doi: 10.1038/ni.3131

221. Prince AL, Ma J, Kannan PS, Alvarez M, Gisslen T, Harris RA, et al. The placental microbiome is altered among subjects with spontaneous preterm birth with and without chorioamnionitis. *Am J Obstet Gynecol* [Internet]. 2016[cited 2019 Feb 10];214(5):627.e1–627.e16. Available from:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4909356/pdf/nihms-789545.pdf>
doi: 10.1016/j.ajog.2016.01.193

222. Pugni L, Pietrasanta C, Acaia B, Merlo D, Ronchi A, Ossola MW, et al. Chorioamnionitis and neonatal outcome in preterm infants: a clinical overview. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2016;29(9):1525–9. doi: 10.3109/14767058.2015.1053862

223. Raicević S, Cubrilo D, Arsenijević S, Vukcević G, Zivković V, Vuletić M, et al. Oxidative stress in fetal distress: potential prospects for diagnosis. *Oxid Med Cell Longev.* 2010;3(3):214–8. doi: 10.4161/oxim.3.3.12070

224. Ramakrishnan S, Anand V, Roy S. Vascular Endothelial Growth Factor Signaling in Hypoxia and Inflammation. *J Neuroimmune Pharmacol.* 2014;9(2):142–60. doi: 10.1007/s11481-014-9531-7

225. Randi AM, Laffan MA, Starke RD. Von Willebrand Factor, Angiodysplasia and Angiogenesis. *Mediterr J Hematol Infect Dis* [Internet]. 2013[cited 2019 Jan 16];5(1):e2013060. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3787682/pdf/mjhid-5-1-e2013060.pdf> doi: 10.4084/MJHID.2013.060

226. Rauch A, Wohner N, Christophe OD, Denis CV, Susen S, Lenting PJ. On the Versatility of von Willebrand Factor. *Mediterr J Hematol Infect Dis* [Internet]. 2013[cited 2019 Apr 17];5(1):e2013046. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3736882/> doi: 10.4084/MJHID.2013.046

227. Roberts DJ, Celi AC, Riley LE, Onderdonk AB, Boyd TK, Johnson LC, et al. Acute histologic chorioamnionitis at term: nearly always noninfectious. *PLoS One* [Internet]. 2012[cited 2019 Jan 21];7(3):e31819. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3296706/pdf/pone.0031819.pdf> doi: 10.1371/journal.pone.0031819

228. Romero R, Chaemsaihong P, Chaityasit N, Docheva N, Dong Z, Kim CJ, et al. CXCL10 and IL- 6: Markers of two different forms of intra- amniotic inflammation in preterm labor. *Am J Reprod Immunol* [Internet]. 2017[cited 2019

Apr 20];78(1):e12685. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5488235/pdf/AJI-78-na.pdf> doi: 10.1111/aji.12685

229. Romero R, Chaemsathong P, Docheva N, Korzeniewski SJ, Kusanovic JP, Yoon BH, et al. Clinical chorioamnionitis at term VI: acute chorioamnionitis and funisitis according to the presence or absence of microorganisms and inflammation in the amniotic cavity. *J Perinat Med.* 2016;44(1):33–51. doi: 10.1515/jpm-2015-0119

230. Romero R, Chaemsathong P, Docheva N, Korzeniewski SJ, Tarca AL, Bhatti G, Xu Z, et al. Clinical chorioamnionitis at term V: umbilical cord plasma cytokine profile in the context of a systemic maternal inflammatory response. *J Perinat Med.* 2016;44(1):53–76. doi: 10.1515/jpm-2015-0121

231. Romero R, Chaemsathong P, Korzeniewski SJ, Tarca AL, Bhatti G, Xu Z, et al. Clinical chorioamnionitis at term II: the intra-amniotic inflammatory response. *J Perinat Med.* 2016;44(1):5–22. doi: 10.1515/jpm-2015-0045

232. Romero R, Miranda J, Chaemsathong P, Chaiworapongsa T, Kusanovic JP, Dong Z, et al. Sterile and Microbial-associated Intra-amniotic Inflammation in Preterm Prelabor Rupture of Membranes. et al. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2015;28(12):1394–409. doi: 10.3109/14767058.2014.958463

233. Romero R, Miranda J, Chaiworapongsa T, Korzeniewski SJ, Chaemsathong P, Gotsch F, et al. Prevalence and clinical significance of sterile intra-amniotic inflammation in patients with preterm labor and intact membranes. *Am J Reprod Immunol.* 2014;72(5):458–74. doi: 10.1111/aji.

234. Romero R, Miranda J, Chaiworapongsa T, Chaemsathong P, Gotsch F, Dong Z, et al. A novel molecular microbiologic technique for the rapid diagnosis of microbial invasion of the amniotic cavity and intra-amniotic infection in preterm labor with intact membranes. *Am J Reprod Immunol.* 2014;71(4):330–58. doi: 10.1111/aji.12189

235. Romero R, Miranda J, Chaiworapongsa T, Chaemsaihong P, Gotsch F, Dong Z, et al. Sterile intra-amniotic inflammation in asymptomatic patients with a sonographic short cervix: prevalence and clinical significance. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2015;28(11):1343-59. doi: 10.3109/14767058.2014.954243
236. Romero R, Miranda J, Kusanovic JP, Chaiworapongsa T, Chaemsaihong P, Martinez A, et al. Clinical chorioamnionitis at term I: microbiology of the amniotic cavity using cultivation and molecular techniques. *J Perinat Med.* 2015;43(1):19–36. doi: 10.1515/jpm-2014-0249
237. Saito S, Nakashima A, Shima T, Ito M. Th1/Th2/Th17 and Regulatory T-Cell Paradigm in Pregnancy. *Am J Reprod Immunol.* 2010;63(6):601–10. doi: 10.1111/j.1600-0897.2010.00852.x
238. Sanghvi TG, Harvey PW, Wainwright E. Maternal iron-folic acid supplementation program: evidence of impact and implementation. *Food Nutr Bull* [Internet]. 2010[cited 2018 Dec 11];31(2 Suppl):S100–7. Available from: <https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/15648265100312S202> doi: 10.1177/15648265100312S202
239. Schoots MH, Gordijn SJ, Scherjon SA, van Goor H, Hillebrands JL. Oxidative stress in placental pathology. *Placenta.* 2018;69:153-61. doi: 10.1016/j.placenta.2018.03.003
240. Schwameis M, Schörgenhofer C, Assinger A, Steiner MM, Jilma B. VWF excess and ADAMTS13 deficiency: a unifying pathomechanism linking inflammation to thrombosis in DIC, malaria, and TTP. *Thromb Haemost.* 2015;113(4):708–18. doi: 10.1160/TH14-09-0731
241. Shibuya M. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and Its Receptor (VEGFR) Signaling in Angiogenesis: A Crucial Target for Anti- and Pro-Angiogenic Therapies. *Genes Cancer.* 2011;2(12):1097–105. doi: 10.1177/1947601911423031
242. Sifuentes-Franco S, Padilla-Tejeda DE, Carrillo-Ibarra S, Miranda-Díaz AG. Oxidative Stress, Apoptosis, and Mitochondrial Function in Diabetic Nephropathy. *Int J Endocrinol* [Internet]. 2018[cited 2018 Dec 11];2018:1875870.

Available

from:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5902001/pdf/IJE2018-1875870.pdf> doi: 10.1155/2018/1875870

243. Signorelli P, Avagliano L, Virgili E, Gagliostro V, Doi P, Braidotti P, et al. Autophagy in term normal human placentas. *Placenta*. 2011;32(6):482–5. doi: 10.1016/j.placenta.2011.03.005

244. Sinha K, Das J, Pal PB, Sil PC. Oxidative stress: the mitochondria-dependent and mitochondria-independent pathways of apoptosis. *Arch Toxicol*. 2013;87(7):1157–80. doi: 10.1007/s00204-013-1034-4

245. Starke RD1, Ferraro F, Paschalaki KE, Dryden NH, McKinnon TA, Sutton RE, et al. Endothelial von Willebrand factor regulates angiogenesis. *Blood*. 2011;117(3):1071–80. doi: 10.1182/blood-2010-01-264507

246. Stone RC, Pastar I, Ojeh N, Chen V, Liu S, Garzon KI, et al. Epithelial-mesenchymal transition in tissue repair and fibrosis. *Cell Tissue Res*. 2016;365(3):495–506. doi: 10.1007/s00441-016-2464-0

247. Sun YY, Li XF, Meng XM, Huang C, Zhang L, Li J. Macrophage Phenotype in Liver Injury and Repair. *Scand J Immunol*. 2017;85(3):166–74. doi: 10.1111/sji.12468

248. Sweeney EL, Dando SJ, Kallapur SG, Knox CL. The Human Ureaplasma Species as Causative Agents of Chorioamnionitis. *Clin Microbiol Rev*. 2017;30(1):349-79. doi: 10.1128/CMR.00091-16

249. Sykes L, MacIntyre DA, Yap XJ, Ponnampalam S, Teoh TG, Bennett PR. Changes in the Th1:Th2 Cytokine Bias in Pregnancy and the Effects of the Anti-Inflammatory Cyclopentenone Prostaglandin15-Deoxy- Δ 12,14_Prostaglandin J2. *Mediators Inflamm* [Internet]. 2012[cited 2018 Dec 21];2012:416739. Available from:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3368617/pdf/MI2012-416739.pdf> doi: 10.1155/2012/416739

250. Tan SN, Sim SP, Khoo AS. Potential role of oxidative stress-induced apoptosis in mediating chromosomal rearrangements in nasopharyngeal carcinoma.

Cell Biosci [Internet]. 2016[cited 2019 Jan 16];6(1):35. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4880972/pdf/13578_2016_Article_103.pdf doi: 10.1186/s13578-016-0103-9

251. Tang C, Liang J, Qianetal J, Jin L, Du M, Li M, et al. Opposing role of JNK-p38 kinase and ERK1/2 in hydrogen peroxide-induced oxidative damage of human trophoblast-like JEG-3 cells. *Int J Clin Exp Pathol*. 2014;7(3):959–68.

252. Tang Z, Zhao L, Yang Z, Liu Z, Gu J, Bai B, et al. Mechanisms of oxidative stress, apoptosis, and autophagy involved in graphene oxide nanomaterial anti-osteosarcoma effect. *Int J Nanomedicine*. 2018;13:2907–19. doi: 10.2147/IJN.S159388

253. Tita AT, Andrews WW. Diagnosis and management of clinical chorioamnionitis. *Clin Perinatol*. 2010;37(2):339–54. doi: 10.1016/j.clp.2010.02.003

254. Toledo MT, Ventrucci G, Gomes-Marcondes MC. Increased oxidative stress in the placenta tissue and cell culture of tumour-bearing pregnant rats. *Placenta*. 2011;32(11):859–64. doi: 10.1016/j.placenta.2011.08.009

255. Torricelli M, Voltolini C, Conti N, Vellucci FL, Orlandini C, Bocchi C, et al. Histologic chorioamnionitis at term: implications for the progress of labor and neonatal wellbeing. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2013;26(2):188–92. doi: 10.3109/14767058.2012.722724

256. Tsang JCH, Vong JSL, Ji L, Poon LCY, Jiang P, Lui KO, et al. Integrative single-cell and cell-free plasma RNA transcriptomics elucidates placental cellular dynamics. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2017[cited 2019 Mar 27];114(37):E7786–E95. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5604038/pdf/pnas.201710470.pdf> doi: 10.1073/pnas.1710470114

257. Wang Y, Liu J, Tao Z, Wu P, Cheng W, Du Y, et al. Exogenous HGF prevents cardiomyocytes from apoptosis after hypoxia via up-Regulating cell autophagy. *Cell Physiol Biochem*. 2016;38(6):2401–13. doi: 10.1159/000445592

258. Wu F, Tian FJ, Lin Y, Xu WM. Oxidative stress: placenta function and dysfunction. *Am J Reprod Immunol*. 2016;76(4):258–71. doi: 10.1111/aji.12454

259. Wu F, Tian FJ, Lin Y. Oxidative Stress in Placenta: Health and Diseases. *Biomed Res Int* [Internet]. 2015[cited 2019 Jan 21];2015:293271. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4676991/pdf/BMRI2015-293271.pdf> doi: 10.1155/2015/293271

260. Young MF, Pressman E, Foehr ML, McNanley T, Cooper E, Guillet R, et al. Impact of maternal and neonatal iron status on placental transferrin receptor expression in pregnant adolescents. *Placenta*. 2010;31(11):1010–4. doi: 10.1016/j.placenta.2010.08.009

261. Yuan H, Deng N, Zhang S, Cao Y, Wang Q, Liu X, et al. The unfolded von Willebrand factor response in bloodstream: the self-association perspective. *J Hematol Oncol* [Internet]. 2012[cited 2019 Feb 10];5:65. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3488313/pdf/1756-8722-5-65.pdf> doi: 10.1186/1756-8722-5-65

262. Zheng XL. Structure-function and regulation of ADAMTS-13 protease. *J Thromb Haemost*. 2013;11(Suppl 1):11–23. doi: 10.1111/jth.12221

Додаток А

Патент України на корсину модель





УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **116109** (13) **U**

(51) МПК (2017.01)

G01N 21/00**G01N 33/48** (2006.01)**A61B 10/00**

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2016 11328	(72) Винахідник(и):
(22) Дата подання заявки: 09.11.2016	Давиденко Ігор Святославович (UA),
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.05.2017	Давиденко Оксана Миколаївна (UA),
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.05.2017, Бюл.№ 9	Гарвасюк Олександра Василівна (UA),
	Мироник Олена Володимирівна (UA),
	Іліка Віталій Валер'янович (UA),
	Попович Андрій Іванович (UA),
	Лазарук Олександр Володимирович (UA)
	(73) Власник(и):
	ВИЩИЙ ДЕРЖАВНИЙ НАВЧАЛЬНИЙ
	ЗАКЛАД УКРАЇНИ "БУКОВИНСЬКИЙ
	ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ"
	МОЗ УКРАЇНИ,
	пл. Театральна, 2, м. Чернівці, 58002 (UA)

(54) СПОСІБ ДОСЛІДЖЕННЯ ОКИСНЮВАЛЬНОЇ МОДИФІКАЦІЇ БІЛКІВ У ЛЕЙКОЦИТАХ**(57) Реферат:**

Спосіб дослідження окиснювальної модифікації білків у лейкоцитах шляхом застосування барвника бромфенолового синього та комп'ютерного мікроспектрофотометричного аналізу цифрових копій оптичних зображень для кількісної оцінки. Проводять глибоке висушування препаратів-мазків крові. Використовують робочий розчин барвника без кислоти та потім промивають пофарбовані препарати-мазки у 95°-му етанолі.

UA 116109 U

Додаток Б

Галузеве нововведення



МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ

УКРАЇНСЬКИЙ ЦЕНТР НАУКОВОЇ МЕДИЧНОЇ
ІНФОРМАЦІЇ ТА ПАТЕНТНО-ЛІЦЕНЗІЙНОЇ РОБОТИ
(УКРМЕДПАТЕНТІНФОРМ)

ПЕРЕЛІК

наукової (науково-технічної) продукції

призначеної для впровадження
досягнень медичної науки
у сферу охорони здоров'я

**ВИПУСК 4****КИЇВ - 2018**

61
П-27

ЦИТАЛЬНИЙ ЗА.

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
 НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ
 УКРАЇНСЬКИЙ ЦЕНТР НАУКОВОЇ МЕДИЧНОЇ ІНФОРМАЦІЇ
 ТА ПАТЕНТНО-ЛІЦЕНЗІЙНОЇ РОБОТИ
 (УКРМЕДПАТЕНТІНФОРМ)

ПОГОДЖЕНО
 Віце-президент
 НАМН України

Д.І. Заболотний

23.09.2018 р.

ЗАТВЕРДЖУЮ

Заступник Міністра
 охорони здоров'я України

Р.Р. Цлик

07.11.2018 р.

ПЕРЕЛІК

наукової (науково-технічної) продукції, призначеної для
 впровадження досягнень медичної науки у сферу охорони здоров'я

(Випуск 4)

Київ – 2018

Реєстр. № 279/4/17

1. СПОСІБ ДОСЛІДЖЕННЯ ОКИСЛЮВАЛЬНОЇ МОДИФІКАЦІЇ БІЛКІВ У ЛЕЙКОЦИТАХ.
2. НДР «Морфологічні аспекти патології плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних», 0114U004125, 2014-2018 рр.
3. Патологічна анатомія.
4. 2+,С.
5. Патент України на корисну модель № 116109. МПК G01N 33/48 (2006.01), G01N 21/00, А61В 10/00. Спосіб дослідження окислювальної модифікації білків у лейкоцитах / Давиденко І.С., Давиденко О.М., Гарвасюк О.В., Мироник О.В., Іліка В.В., Попович А.І., Лазарук О.В.; заявник та патентовласник Вищий державний навчальний заклад України «Буковинський державний медичний університет». – № u201611328; заявл. 09.11.2016; опубл. 10.05.2017. Бюл. № 9.
6. Немає.
7. У пацієнта беруть свіжу кров, наносять на знежирене предметне скельце рівномірним тонким шаром, проводять глибоке висушування препаратів-мазків крові – не менше ніж протягом однієї години при температурі 20-25°C і відносній вологості не більше 60%, потім висушені препарати-мазки занурюють у робочий розчин барвника бромфенолового синього, в який не додають кислоти і тримають у ньому при 20-25°C протягом 8-ми хвилин, після чого препарати-мазки промивають двічі в 95°-му етанолі і висушують протягом 10-ти хвилин, далі з препаратів-мазків за допомогою оптичного мікроскопа та цифрової фотокамери роблять цифрові кольорові оптичні зображення лейкоцитів і засобами комп'ютерної програми ImageJ отримують мікроспектрофотометричні показники R та B, на основі яких розраховують індекс R/B, який є мірою окиснювальної модифікації білків.
8. Підвищення ефективності діагностичних маніпуляцій, пришвидшення процесу встановлення діагнозу захворювань, які супроводжуються зростанням рівня окиснювальної модифікації білків у лейкоцитах крові людини. Медична ефективність: покращення діагностики змін у лейкоцитах крові при різних захворюваннях, які супроводжуються зростанням рівня окиснювальної модифікації білків. Соціальна ефективність: покращення якості життя та здоров'я населення за рахунок підвищення ефективності діагностики захворювань, які супроводжуються зростанням рівня окиснювальної модифікації білків у лейкоцитах крові, що дозволить оптимізувати лікування вказаних захворювань людини. Економічна ефективність: зменшення фінансових витрат на проведення досліджень з оцінки рівня окиснювальної модифікації білків у лейкоцитах крові людини.
9. Набір реактивів для виконання гістохімічної методики з бромфеноловим синім.
10. Діагностика захворювань, які супроводжуються підвищеним рівнем лейкоцитів у крові.
11. Немає.
12. Помилки можливі тільки в разі застосування інших методів фіксації матеріалу, відмінних від фіксації у парах параформальдегіду.
13. Вищий державний навчальний заклад України «Буковинський державний медичний університет». 58000, Україна, м. Чернівці, пл. Театральна, 2.
14. Немає.
15. Давиденко І.С. (0951936146), Давиденко О.М. (0660892764), Іліка В.В. (0951477073).

Реєстр. № 280/4/17

1. ОПТИМІЗАЦІЯ УМОВ ДІАГНОСТИКИ ОТРУЄННЯ МІРТАЗАПІНОМ В

Додаток В

Акти впровадження

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Головний лікар Сторожинецької ЦРЛ

 _____ О. Ф. Войцеховський
 « 12 » _____ 2018 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиції для впровадження:** «Спосіб дослідження окиснювальної модифікації білків у лейкоцитах»
2. **Установа-розробник:** Вищий державний навчальний заклад України «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці, пл. Театральна 2, кафедра патологічної анатомії, асистент Іліка В.В., д.м.н. Давиденко І.С.
3. **Джерело інформації:** Давиденко І.С., Давиденко О.М., Гарвасюк О.В., Мироник О.В., Іліка В.В., Попович А.І. Спосіб дослідження окиснювальної модифікації білків у лейкоцитах // Деклараційний патент України на винахід №116109. – 10.05.2017. – Бюл. №9. – 2с. (заявл. 09.11.2016, №u201611328, ВДНЗ БДМУ)
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Сторожинецька центральна районна лікарня.
5. **Термін впровадження:** лютий 2018 р. по травень 2018 р.
6. **Форма впровадження:** у діагностичну роботу гінекологічного відділення Сторожинецької ЦРЛ.
7. **Загальна кількість спостережень:** 198 випадків.
8. **Ефективність застосування:** Дотримання викладеної удосконаленої гістохімічної методики покращить діагностику захворювань, які супроводжуються зростанням рівня окиснювальної модифікації білків у лейкоцитах крові людини.
9. **Зауваження, пропозиції:** зауважень немає.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач пологовим та гінекологічним

відділенням Сторожинецької ЦРЛ

« 12 » _____ 2018 року

В.Д. Манчуленко

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Начальник КЗ ЛОР «Львівське
обласне патологоанатомічне бюро»

п. Б.Й. Рібун
«21» лютого 2018 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Пропозиції для впровадження: «Використання імуногістохімічного дослідження на фактор фон Віллебранда при хоріонамніоніті та базальному децидуїту»

2. Установа-розробник: Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці, пл. Театральна 2, кафедра патологічної анатомії, Іліка В.В., Давиденко І.С.

3. Джерело інформації: Ilika V, Davydenko I. Optical density quantitative parameters of the immunohistochemical staining on the von Willebrand factor in the endothelium and fibrinoid of the placenta in connection with the secondary inflammation and iron deficiency anemia in gravidas. Georgian Med News 2017; (273):108-113.

4. Базова установа, яка проводить впровадження: КЗ ЛОР «Львівське обласне патологоанатомічне бюро», 2018 р.

5. Термін впровадження: лютий 2018 р. по квітень 2018 р.

6. Загальна кількість спостережень: 198.

7. Ефективність впровадження: Запропонований метод спрямований на покращення діагностики ендотеліальної дисфункції при запальних процесах в плаценті та залізодефіцитної анемії вагітних.

8. Зауваження, пропозиції: зауважень немає.

Відповідальний за впровадження

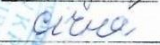
Начальник КЗ ЛОР

«Львівське обласне патологоанатомічне бюро» Б.Й. Рібун

«21» лютого 2018 року



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор з
науково-педагогічної роботи
Львівського національного медичного
університету ім. Данила Галицького
чл-кор. НАМН
України  М.Р.Гжегоцький
«12»  2018 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиції для впровадження:** «Гістохімічна оцінка процесів окиснювальної модифікації білків в ендотеліоцитах кровоносних судин»

2. **Установа-розробник:** Вищий державний навчальний заклад України «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці, пл. Театральна 2, кафедра патологічної анатомії, Іліка В.В., Давиденко І.С.

3. **Джерело інформації:**

1. Іліка В.В. Гістохімічна оцінка процесів окиснювальної модифікації білків в ендотеліоцитах кровоносних судин базальної пластинки плаценти при поєднанні запалення посліду та залізодефіцитної анемії вагітних /Іліка В.В., Давиденко І.С., Давиденко О.М. // Клінічна та експериментальна патологія – 2016, том 15, №4 (58). – С. 54-57.

4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького, кафедра патологічної анатомії та судової медицини.

5. **Термін впровадження:** грудень 2017 р. по березень 2018 р.

6. **Форма впровадження:** у навчальний процес кафедри патологічної анатомії та судової медицини Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького.

7. **Зауваження, пропозиції**

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патологічної анатомії та судової медицини
Львівського національного медичного університету
ім. Данила Галицького
д.мед.н., професор



Ю. О.Поспішіль

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Проректор з науково-педагогічної роботи
 Вищого державного навчального закладу
 України «Буковинський державний
 медичний університет»
 доцент _____ І. В. Геруш
 «15» _____ 2018 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиції для впровадження:** «Спосіб дослідження окиснювальної модифікації білків у лейкоцитах»
2. **Установа-розробник:** Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці, пл. Театральна 2, кафедра патологічної анатомії, Іліка В.В., Давиденко І.С.
3. **Джерело інформації:** Давиденко І.С., Давиленко О.М., Гарвасюк О.В., Мироник О.В., Іліка В.В., Попович А.І. Спосіб дослідження окиснювальної модифікації білків у лейкоцитах // Деклараційний патент України на винахід №116109. – 10.05.2017. – Бюл. №9. – 2с. (заявл. 09.11.2016, №u201611328, ВДНЗ БДМУ)
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Вищий державний навчальний заклад України «Буковинський державний медичний університет», кафедра патологічної анатомії.
5. **Термін впровадження:** грудень 2017 р. по лютий 2018 р.
6. **Форма впровадження:** у навчальний процес: матеріали лекцій та практичних занять з патоморфології, у науково-дослідницьку роботу кафедри.
7. **Ефективність застосування:** Дотримання викладеної удосконаленої гістохімічної методики підвищить ефективність діагностики захворювань, які супроводжуються зростанням рівня окиснювальної модифікації білків у лейкоцитах крові людини.
8. **Зауваження, пропозиції:** зауважень немає.

Пропозиція обговорена та затверджена на методичному засіданні кафедри патологічної анатомії (протокол № 9, від 13.02 2018 р.)

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патологічної анатомії
 Вищого державного навчального закладу України
 «Буковинський державний медичний університет»,
 д.мед.н., професор

 І. С. Давиденко



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Начальник Чернівецької обласної комунальної установи «Патологоанатомічне бюро»

К. мед. н. _____ Д. І. Гречко

«09» січня 2018 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Пропозиції для впровадження: «Використання гістохімічного дослідження для визначення обмеженого протеолізу при хоріонамніоніті та базальному децидуїті у поєднанні з залізодефіцитною анемією вагітних»

2. Установа-розробник: Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці, пл. Театральна 2, кафедра патологічної анатомії, Іліка В.В., Давиденко І.С.

3. Джерело інформації: Іліка В. В. Кількісні характеристики обмеженого протеолізу в ендотеліоцитах кровоносних судин плаценти при поєднанні запалення посліду та залізодефіцитної анемії вагітних / В. В. Іліка // Український журнал медицини, біології та спорту. – 2018.- №1 (10) - С. 36-39.

4. Базова установа, яка проводить впровадження: Чернівецька ОКУ «Патологоанатомічне бюро», 2018 р.

5. Термін впровадження: січень 2018 р. по березень 2018 р.

6. Загальна кількість спостережень: 198.

7. Ефективність впровадження: Запропоновані матеріали, мають практичне та теоретичне значення, і спрямовані на покращення діагностики запальних процесів в плаценті.

8. Зауваження, пропозиції: зауважень немає.

Відповідальний за впровадження Зав. відділ. гістол. патол. н. н. І
з гіст. каб. Теревка - Новбасюк О. В. / [підпис] (посада, підпис)

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи
ДЗ «Дніпропетровська медична академія
Міністерства охорони здоров'я України»
професор _____ Л.Ю. Науменко

« 05 » _____ 2018 р.

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

1. **Пропозиції для впровадження:** «Гістохімічна оцінка процесів окиснювальної модифікації білків в фібриноїді базальної пластинки плаценти»
2. **Установа-розробник:** Вищий державний навчальний заклад України «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці, пл. Театральна 2, кафедра патологічної анатомії, Іліка В.В., Давиденко І.С.
3. **Джерело інформації:** Іліка В.В. Гістохімічна оцінка процесів окиснювальної модифікації білків у фібриноїді базальної пластинки плаценти при поєднанні запалення посліду та залізодефіцитної анемії вагітних / Іліка В.В., Давиденко І.С., Давиденко О.М. // Клінічна анатомія та експериментальна медицина – 2016, том 15, № 4 (58). – С. 48-51.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Державний заклад «Дніпропетровська медична академія Міністерства охорони здоров'я України», кафедра патологічної анатомії та судової медицини.
5. **Термін впровадження:** березень 2018 р. по травень 2018 р.
6. **Форма впровадження:** у навчальний процес: матеріали лекцій та практичних занять з патоморфології.
7. **Зауваження, пропозиції:** зауважень немає.

Відповідальний за впровадження

Завідувач кафедри патологічної
анатомії та судової медицини
ДЗ «Дніпропетровська медична академія
Міністерства охорони здоров'я України»
к.мед.н., доцент

Алексєєнко О.А.

« 05 » березня 2018 року

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор ДВНЗ
«Івано-Франківський національний
медичний університет»
д.біол.н., професор
Г.М.Ерстенюк
«24» березня 2018р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиції для впровадження:** «Спосіб дослідження окиснювальної модифікації білків у лейкоцитах»
2. **Установа-розробник:** Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці, пл. Театральна 2, кафедра патологічної анатомії, Іліка В.В., Давиденко І.С.
3. **Джерело інформації:** Деклараційний патент України на винахід №116109. – 10.05.2017. – Бюл. №9. – 2с. (заявл. 09.11.2016, №u201611328, ВДНЗ БДМУ) Спосіб дослідження окиснювальної модифікації білків у лейкоцитах // Давиденко І.С., Давиденко О.М., Гарвасюк О.В., Мироник О.В., Іліка В.В., Попович А.І.
4. **Базова установа, яка проводить впровадження:** Державний вищий навчальний заклад «Івано-Франківський національний медичний університет».
5. **Термін впровадження:** березень 2018 р. по травень 2018 р.
6. **Форма впровадження:** у навчальний процес: матеріали лекцій та практичних занять з патоморфології, у науково-дослідницьку роботу кафедри.
7. **Ефективність застосування:** Дотримання викладеної удосконаленої гістохімічної методики покращить діагностику захворювань, які супроводжуються зростанням рівня окиснювальної модифікації білків у лейкоцитах крові людини.
8. **Зауваження, пропозиції:** зауважень немає.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри патоморфології та
судової медицини Івано-Франківського
національного медичного університету
д.мед.н., професор

Михайлюк І.О.

Додаток Г

Відомості про апробацію результатів дисертації

1. науково-практична інтернет-конференція з міжнародною участю «Значення морфологічних наук на сучасному етапі розвитку медицини» (Чернівці, 26 – 27 листопада 2014 р.) – публікація тез;
2. II міжнародний медико-фармацевтичний конгрес студентів та молодих учених (Чернівці, 8 – 9 квітня 2015 р.) – публікація тез, усна доповідь;
3. III міжнародна науково-практична конференція студентів та молодих учених «Актуальні питання теоретичної та практичної медицини» (Суми, 23 – 24 квітня 2015 р.) – публікація тез;
4. 96-та підсумкова наукова конференція професорсько-викладацького складу БДМУ (Чернівці, 16, 18, 23 лютого 2015 р.) – публікація тез, усна доповідь;
5. III міжнародний медико-фармацевтичний конгрес студентів та молодих учених (Чернівці, 6 квітня 2016 р.) – публікація тез, усна доповідь;
6. 70 наукова конференція студентів-медиків «Актуальні проблеми сучасної медичної науки» (Республіка Узбекистан, Самарканд, 27 травня 2016 р.) – публікація тез;
7. міжнародна науково-практична конференція молодих учених «Наука і здоров'я», присвячена 75-річчю Президента Асоціації оториноларингологів Республіки Казахстан, академіка Національної Академії Наук Республіки Казахстан, д.мед.н., проф. Толєбаєва Райса Кажкеновича (Республіка Казахстан, Семей, 22 квітня 2016 р.) – публікація тез;
8. 97-та підсумкова наукова конференція професорсько-викладацького складу БДМУ (Чернівці, 15, 17, 22 лютого 2016 р.) – публікація тез, усна доповідь;

9. IV міжнародний медико-фармацевтичний конгрес студентів та молодих учених «Іновації та перспективи сучасної медицини» (Чернівці, 5 – 7 квітня 2017 р.) – публікація тез, усна доповідь;
10. XVII міжнародна науково-практична конференція студентів та молодих учених і II форум молодіжних наукових товариств (Вітебськ, 15 – 16 листопада 2017 р.) – публікація тез;
11. всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю присвяченій 105-річчю від дня народження проф. Я.Д. Кіршенבלата (Чернівці, 2017 р.) – публікація тез, усна доповідь;
12. 98-ма підсумкова наукова конференція професорсько-викладацького складу БДМУ (Чернівці, 13, 15, 20 лютого 2017 р.) – публікація тез, усна доповідь;
13. V міжнародний медико-фармацевтичний конгрес студентів та молодих учених «Іновації та перспективи сучасної медицини» (Чернівці, 4 – 6 квітня 2018 р.) – публікація тез, усна доповідь;
14. 99-та підсумкова наукова конференція професорсько-викладацького складу БДМУ (Чернівці, 12, 14, 19 лютого 2018 р.) – публікація тез, усна доповідь.

Додаток Д

Наукові публікації надруковані за темою дисертації

Праці, у яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Іліка ВВ, Давиденко ІС, Давиденко ОМ. Гістохімічна оцінка процесів окиснювальної модифікації білків в ендотеліоцитах кровоносних судин базальної пластинки плаценти при поєднанні запалення посліду та залізодефіцитної анемії вагітних. Клінічна та експериментальна патологія. 2016;15(4):54–7. *(Особистий внесок – провів аналіз літератури, здійснив патоморфологічне та мікроспектрофотометричне дослідження зі статистичною обробкою матеріалу, брав участь в аналізі та обговоренні одержаних результатів, сформував висновки, підготував статтю до друку)*
2. Іліка ВВ, Давиденко ІС, Давиденко ОМ. Гістохімічна оцінка процесів окиснювальної модифікації білків у фібриноїді базальної пластинки плаценти при поєднанні запалення посліду та залізодефіцитної анемії вагітних. Клінічна анатомія та оперативна хірургія. 2016;15(4):48–51. doi: <https://doi.org/10.24061/1727-0847.15.4.2016.95> *(Особистий внесок – провів аналіз літератури, здійснив патоморфологічне та мікроспектрофотометричне дослідження ступеня окиснювальної модифікації білків зі статистичною обробкою матеріалу, брав участь в аналізі та узагальненні одержаних результатів, сформував висновки, підготував статтю до друку)*
3. Іліка ВВ, Давиденко ІС, Давиденко ОМ. Гістохімічна оцінка процесів окиснювальної модифікації білків у децидуальних клітинах базальної пластинки плаценти при поєднанні запалення посліду та залізодефіцитної анемії вагітних. Буковинський медичний вісник. 2017;21(1):54–7. doi: <https://doi.org/10.24061/2413-0737.XXI.1.81.2017.11> *(Особистий внесок – провів аналіз літератури, здійснив патоморфологічне та мікроспектрофотометричне дослідження ступеня окиснювальної*

модифікації білків зі статистичною обробкою матеріалу, брав участь в аналізі та узагальненні одержаних результатів, сформував висновки, підготував статтю до друку)

4. Ilika VV, Davydenko IS. Von Willebrand factor immunohistochemical staining quantitative optical density parameters in the endothelium and fibrinoid of the placenta during secundines inflammation and concomitant iron deficiency anemia in gravidas. Georgian Med News. 2017;12:108–13. *(Особистий внесок – провів аналіз літератури, разом зі співавтором сформував основну концепцію роботи та здійснив імуногістохімічне дослідження на фактор von Willebrand, особисто здійснив мікроденситометрію та статистичну обробку матеріалу, провів аналіз та узагальнення одержаних результатів, сформував висновки, підготував статтю до друку)*

5. Іліка ВВ. Кількісні характеристики обмеженого протеолізу в ендотеліоцитах кровоносних судин плаценти при поєднанні запалення посліду та залізодефіцитної анемії вагітних. Український журнал медицини, біології та спорту. 2018;3(1):36–9. doi: <https://doi.org/10.26693/jmbs03.01.036>

6. Іліка ВВ, Давиденко ІС. Хемілюмінесцентне дослідження нітропероксидів у структурах плаценти при хоріонамніоніті та базальному децидуїті з залізодефіцитною анемією вагітних. Український журнал медицини, біології та спорту. 2018;3(5):36–40. doi: <https://doi.org/10.26693/jmbs03.05.036> *(Особистий внесок – провів аналіз літератури, сформував основну концепцію роботи та здійснив імуногістохімічне дослідження на виявлення проапоптотичного протеїну Вах, провів кількісні денситометричні дослідження, разом зі співавтором проаналізував та узагальнив одержані результати, сформував висновки, підготував статтю до друку)*

7. Іліка ВВ, Давиденко ІС. Результати органоетричного дослідження плацент та гістохімічного дослідження колагенових волокон при хоріонамніоніті та базальному децидуїті в поєднанні з залізодефіцитною

анемією вагітних. Вісник морської медицини. 2018;3:109–16. doi: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.1450851> *(Особистий внесок – провів аналіз літератури, органоетричне та гістохімічне дослідження, статистичне опрацювання отриманих результатів, разом зі співавтором проаналізував та узагальнив одержані результати, сформував висновки, підготував статтю до друку)*

8. Іліка ВВ, Давиденко ІС. Імуногістохімічне вивчення проапоптотичного протеїну Вах в децидуїтах базальної пластинки плаценти при базальному децидуїті в поєднанні з залізодефіцитною анемією вагітних. Український журнал медицини, біології та спорту. 2018;3(7):9–13. doi: <https://doi.org/10.26693/jmbs03.07.009> *(Особистий внесок – провів аналіз літератури, разом зі співавтором сформував основну концепцію роботи та здійснив імуногістохімічне дослідження, особисто здійснив мікроденситометрію та статистичну обробку матеріалу, провів аналіз та узагальнення одержаних результатів, сформував висновки, підготував статтю до друку)*

Результати, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

9. Іліка В. В., Давиденко І. С. Хемілюмінесцентне дослідження нітропероксидів в осередку запалення при хоріонамніоніті та базальному децидуїті у вагітних із залізодефіцитною анемією. В: Кравченко ОВ, редактор. Матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю: до 100-річчя з дня народження проф. Борими Т.В. Перспективні напрямки розвитку сучасної перинатології; 2014 Жов 16; Чернівці. Чернівці: Медуніверситет; 2014, с. 108–111. *(Особистий внесок – здійснив хемілюмінесцентне дослідження, морфометричні дослідження, статистичну обробку матеріалу, брав участь в аналізі одержаних результатів, сформував висновки, підготував статтю до друку)*

10. Іліка В. В., Давиденко І. С. Морфологічна оцінка вільнорадикальних процесів у структурі плаценти при хоріонамніонітах поєднаних із анемією вагітних. Матеріали 15 Конгресу Світової Федерації Українських лікарських товариств, м. Чернівці, 16–18 жовтня 2014 р. Українські медичні вісті. 2014. Т.11, №.1-4. С. 472. *(Особистий внесок – провів аналіз літератури, здійснив патоморфологічне та мікроспектрофотометричне дослідження зі статистичною обробкою матеріалу, брав участь в аналізі та узагальненні одержаних результатів, сформував висновки, підготував тези до друку)*

11. Илика ВВ. Сравнительная характеристика процессов окислительной модификации белков в фибриноиде и эндотелиоцитах кровеносных сосудов базальной пластинки плаценты при хроническом базальном децидуите в сочетании с железодефицитной анемией беременных. В: Шамсиев АМ, редактор. Материалы 70 науч. конф. студентов-медиков с междунар. участием Актуальные проблемы современной медицины; 2016 Май 27; Самарканд. Самарканд; 2016, с. 265–6.

12. Илика ВВ, Давыденко ИС. Изучение процессов окислительной модификации белков с оценкой соотношения между аминок- и карбоксильными группами при воспалении плаценты в сочетании с железодефицитной анемией беременных. Наука и здравоохранение. 2016;2(Спецвып):82. *(Особистий внесок – провів аналіз літератури, здійснив патоморфологічне та мікроспектрофотометричне дослідження з визначенням співвідношення між аміно- та карбоксильними групами білків, статистичну обробку матеріалу, брав участь в аналізі та узагальненні одержаних результатів, сформував висновки, підготував тези до друку)*

13. Іліка ВВ. Гістохімічна оцінка процесів окиснювальної модифікації білків в децидуоцитах базальної пластинки плаценти при гострому базальному децидуїті з залізодефіцитною анемією вагітних. В: Бойчук ТМ, Іващук ОІ, Безрук ВВ, редактори. Матеріали 97-ї наук. конф. професорсько-викладацького персоналу Вищого державного навчального

закладу України «Буковинський державний медичний університет»; 2016 Лют 15, 17, 22; Чернівці. Чернівці: 2016, с. 14.

14. Іліка ВВ. Гістохімічна оцінка процесів окиснювальної модифікації білків в децидуїтах базальної пластинки плаценти при хронічному базальному децидуїті з залізодефіцитною анемією вагітних. В: Бойчук ТМ, Іващук ОІ, Безрук ВВ, редактори. Матеріали 97-ї наук. конф. професорсько-викладацького персоналу Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет»; 2016 Лют 15, 17, 22; Чернівці. Чернівці: 2016, с. 15.

15. Илика ВВ. Морфологические подходы к измерению уровня фактора von Willebrandt в эндотелиоцитах кровеносных сосудов хориальной пластинки плаценты при воспалении в сочетании с железодефицитной анемией беременных. В: Материалы XVII междунар. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых и II Форума молодеж. науч. обществ Студенческая медицинская наука XXI века. II Форум молодежных научных обществ; 2017 Ноя 15–16; Витебск. Витебск: ВГМУ; 2017. Ч 1, с. 298.

16. Іліка ВВ. Кількісні параметри оптичної густини імуногістохімічного забарвлення на фактор von Willebrand в ендотеліоцитах хоріальної пластинки плаценти при хоріонамніоніті у поєднанні з залізодефіцитною анемією вагітних. Клінічна та експериментальна патологія. 2017;16(3 Ч 1):45.

17. Илика ВВ. Апоптоз в децидуоцитах базальной пластинки плаценты при базальном децидуите в сочетании с железодефицитной анемией беременных. Проблемы биологии и медицины. 2018;2,1:318.

18. Іліка ВВ. Гістохімічне вивчення процесів обмеженого протеолізу в фібриноїді хоріальної пластинки плаценти при поєднанні запалення посліду та залізодефіцитної анемії вагітних. В: Корда ММ, редактор. Матеріали 22 міжнар. медичного конгресу студентів та молодих вчених; 2018 Кві 23–25; Тернопіль. Тернопіль: Укрмедкнига; 2018, с. 311.

19. Іліка ВВ. Кількісне дослідження інтенсивності світіння нітропероксидів у ендотеліоцитах хоріальної пластинки плаценти при хоріонамніоніті в поєднанні з залізодефіцитною анемією вагітних. *ВІМСО Journal*. 2018;2018:276.

Праці, які додатково відображають результати дисертації:

20. Давиденко ІС, Давиденко ОМ, Гарвасюк ОВ, Мироник ОВ, Іліка ВВ, Попович АІ, та ін., винахідники; Вищий державний навчальний заклад України «Буковинський державний медичний університет», патентовласник. Спосіб дослідження окиснювальної модифікації білків в лейкоцитах. Патент України № 116109. 2017 Тра 10. *(Особистий внесок – провів аналіз літератури та існуючих патентів, брав участь в експериментах, самостійно узагальнив результати та підготував супровідну документацію для подання до друку запропонованого способу)*

21. Давиденко ІС, Давиденко ОМ, Іліка ВВ. Спосіб дослідження окиснювальної модифікації білків в лейкоцитах. Перелік наукової (науково-практичної) продукції, призначеної для впровадження досягнень медичної науки у сфері охорони здоров'я. 2018;4:257–8. *(Особистий внесок – брав участь в експерименті, провів узагальнення результатів, підготував супровідну документацію для подання до друку підготовленого нововведення)*

Додаток Е

Результати гістохімічної методика на загальний білок з бромфеноловим синім за Бонхегом

Таблиця Д.1 – Оптична густина забарвлення на загальний білок (відн. од. опт. густ.) у структурах базальної та хоріальної пластинок плаценти при фізіологічній вагітності та залізодефіцитній анемії вагітних ($M \pm m$)

Структури	Групи дослідження	
	Спостереження фізіологічної вагітності (n=20)	Спостереження залізодефіцитної анемії вагітних без запалення плаценти (n=21)
Ендотеліоцити кровоносних судин хоріальної пластинки	0,234 $\pm$ 0,0108	0,230 $\pm$ 0,0091*
Фібриноїд хоріальної пластинки	0,412 $\pm$ 0,0114	0,421 $\pm$ 0,0102*
Ендотеліоцити кровоносних судин базальної пластинки	0,238 $\pm$ 0,0107	0,236 $\pm$ 0,0098*
Фібриноїд базальної пластинки	0,408 $\pm$ 0,0104	0,416 $\pm$ 0,0110*
Децидуоцити базальної пластинки	0,195 $\pm$ 0,0099	0,191 $\pm$ 0,0091*

Примітка. * – $p > 0,05$ порівняно з фізіологічною вагітністю.

Таблиця Д.2 – Оптична густина забарвлення на загальний білок (відн. од. опт. густ.) у структурах базальної та хоріальної пластинок плаценти при фізіологічній вагітності та залізодефіцитній анемії вагітних ($M \pm m$)

Структури	Групи дослідження	
	Спостереження фізіологічної вагітності (n=20)	Спостереження залізодефіцитної анемії вагітних без запалення плаценти (n=21)
Ендотеліоцити кровоносних судин хоріальної пластинки	0,234 $\pm$ 0,0108 *	0,230 $\pm$ 0,0091**
Фібриноїд хоріальної пластинки	0,412 $\pm$ 0,0114*	0,421 $\pm$ 0,0102**
Ендотеліоцити кровоносних судин базальної пластинки	0,238 $\pm$ 0,0107*	0,236 $\pm$ 0,0098**
Фібриноїд базальної пластинки	0,408 $\pm$ 0,0104*	0,416 $\pm$ 0,0110**
Децидуоцити базальної пластинки	0,195 $\pm$ 0,0099*	0,191 $\pm$ 0,0091**

Примітки:

1. * – $p > 0,05$ порівняно з фізіологічною вагітністю;
2. ** – $p > 0,05$ порівняно з запаленням без анемії.

Таблиця Д.3 – Оптична густина забарвлення на загальний білок (відн. од. опт. густ.) в ендотеліоцитах кровоносних судин плаценти при поєднанні різних форм запалення та залізодефіцитної анемії вагітних ($M \pm m$)

Групи дослідження	Спостереження запалення посліду при вагітності без анемії	Спостереження запалення посліду при залізодефіцитній анемії вагітних
Хоріоамніоніт гострий (ендотелій хоріальної пластинки)	$0,231 \pm 0,0097^*$ (n=23)	$0,229 \pm 0,094^{**}$ (n=21)
Хоріоамніоніт хронічний (ендотелій хоріальної пластинки)	$0,233 \pm 0,00104^*$ (n=20)	$0,230 \pm 0,0092^{**}$ (n=21)
Базальний децидуїт гострий (ендотелій базальної пластинки)	$0,236 \pm 0,00108^*$ (n=16)	$0,232 \pm 0,0098^{**}$ (n=15)
Базальний децидуїт хронічний (ендотелій базальної пластинки)	$0,230 \pm 0,0093^*$ (n=21)	$0,233 \pm 0,00104^{**}$ (n=20)

Примітки:

1. * – $p > 0,05$ порівняно з фізіологічною вагітністю;
2. ** – $p > 0,05$ порівняно з запаленням без анемії.

Таблиця Д.4 – Оптична густина забарвлення на загальний білок (відн. од. опт. густ.) у фібриноїді плаценти при поєднанні різних форм запалення посліду та залізодефіцитної анемії вагітних ($M \pm m$)

Групи дослідження	Спостереження запалення посліду при вагітності без анемії	Спостереження запалення посліду при залізодефіцитній анемії вагітних
Хоріоамніоніт гострий (фібриноїд хоріальної пластинки)	$0,410 \pm 0,0110^*$ (n=23)	$0,412 \pm 0,0112^{**}$ (n=21)
Хоріоамніоніт хронічний (фібриноїд хоріальної пластинки)	$0,414 \pm 0,0109^*$ (n=20)	$0,417 \pm 0,0114^{**}$ (n=21)
Базальний децидуїт гострий (фібриноїд базальної пластинки)	$0,407 \pm 0,0106^*$ (n=16)	$0,405 \pm 0,0104^{**}$ (n=15)
Базальний децидуїт хронічний (фібриноїд базальної пластинки)	$0,404 \pm 0,0104^*$ (n=21)	$0,401 \pm 0,0102^{**}$ (n=20)

Примітки:

- 1.* – $p > 0,05$ порівняно з фізіологічною вагітністю;
2. ** – $p > 0,05$ порівняно з запаленням без анемії.

Таблиця Д.5 – Оптична густина забарвлення на загальний білок (відн. од. опт. густ.) у децидуоцитах базальної пластинки плаценти при поєднанні різних форм запалення посліду та залізодефіцитної анемії вагітних ($M \pm m$)

Групи дослідження	Спостереження запалення посліду при вагітності без анемії	Спостереження запалення посліду при залізодефіцитній анемії вагітних
Базальний децидуїт гострий (досліджено фібриноїд базальної пластинки)	$0,192 \pm 0,0104^*$ (n=16)	$0,189 \pm 0,0095^{**}$ (n=15)
Базальний децидуїт хронічний (досліджено фібриноїд базальної пластинки)	$0,190 \pm 0,0101^*$ (n=21)	$0,184 \pm 0,0091^{**}$ (n=20)

Примітки:

1. * – $p > 0,05$ порівняно з фізіологічною вагітністю;
2. ** – $p > 0,05$ порівняно з запаленням без анемії.