

УДК 611-013.85:618.39-021.3

В.В. Іліка, І.С. Давиденко, О.М. Давиденко*

*Кафедра патологічної анатомії (зав. – проф. І.С. Давиденко), *кафедра внутрішньої медицини та інфекційних хвороб (зав. – проф. О.І. Федів) Вищий державний навчальний заклад України “Буковинський державний медичний університет”, м. Чернівці*

ГІСТОХІМІЧНА ОЦІНКА ПРОЦЕСІВ ОКИСНЮВАЛЬНОЇ МОДИФІКАЦІЇ БІЛКІВ У ФІБРИНОЇДІ БАЗАЛЬНОЇ ПЛАСТИНКИ ПЛАЦЕНТИ ПРИ ПОЄДАННІ ЗАПАЛЕННЯ ПОСЛІДУ ТА ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНОЇ АНЕМІЇ ВАГІТНИХ

Резюме. На підставі проведених досліджень з використанням гістохімічної реакції з бромфеноловим синім на “кислі” та “основні” білки за Mikel Calvo встановлено: при залізодефіцитній анемії у фібриноїді базальної пластинки відзначена помірна інтенсифікація процесів окиснювальної модифікації білків порівняно з фізіологічною вагітністю; при запаленні посліду має місце суттєве зростання інтенсивності процесів окиснювальної модифікації білків у фібриноїді базальної пластинки, за винятком гострої форми хоріонамніоніту; фонові залізодефіцитна анемія при різних формах запалення посліду суттєво впливає на перебіг процесів окиснювальної модифікації білків у фібриноїді базальної пластинки тільки для хронічних форм запалення посліду.

Ключові слова: окиснювальна модифікація білків, запалення посліду, залізодефіцитна анемія вагітних, фібриноїд базальної пластинки.

Фібриноїд базальної пластинки плаценти є поліморфним багатокомпонентним утворенням, яке розташоване між різними структурами базальної пластинки – клітинами, судинами, сполучнотканними волокнами. До складу фібриноїду, залежно від умов його формування, можуть входити: фібрин, інтегринові молекули, продукти розкладу еритроцитів, трофобласта, децидуоцитів, білки плазми крові тощо [1, 2]. Усі названі елементи знаходяться у стані постійної модифікації, в тому числі під впливом вільнорадикальних процесів [3, 4]. Такий аспект вільнорадикальних процесів, як окиснювальна модифікація білків (ОМБ) у фібриноїді базальної пластинки плаценти при запаленні не вивчений, хоча такі дослідження є заздалегідь перспективними. Інтерес до процесів окиснювальної модифікації білків при запаленні пов'язаний із тим, що при запальних реакціях, як правило, підвищується рівень вільних радикалів кисню, які, окиснюючи аміногрупи білків, змінюють властивості цих макромолекул. Це стосується і білків-ферментів, і структурних протеїнів, і рецепторних білків, сигнальних молекул тощо. Інте-

рес до ОМБ при залізодефіцитній анемії (ЗДАВ) пов'язаний із тим, що анемічний стан здебільшого супроводжується інтенсифікацією вільнорадикальних процесів у крові та тканинах, а залізодефіцит додатково здатен модифікувати ці процеси, причому наперед точно передбачити, які саме розвинуться конкретні ефекти, дуже складно.

Сутність ОМБ полягає у тому, що окиснення аміногруп білків призводить до зміни співвідношення між аміно- та карбоксильними групами у них. Це співвідношення можна оцінити не тільки біохімічним методом, але й за допомогою гістохімічної методики на “кислі” та “основні” білки з бромфеноловим синім за Mikel Calvo, при якій білки забарвлюються в різні кольори, залежно від їхніх властивостей за співвідношенням аміно- та карбоксильних груп [5]. Для прикладу: при явному переважаючому аміногруп у білках, вони фарбуються в синій колір, а при явному переважаючому карбоксильних груп – у червоний. На практиці завжди має місце комбіноване забарвлення з причини присутності в тканинах “суміші” білків, що спонукає застосувати не тільки візуальну, але і кі-

лькісну оцінку ступеня ОМБ. Методологічно це здійснюється мікроспектрофотометричним методом на цифрових зображеннях гістологічних зрізів, пофарбованих бромфеноловим синім за Mikel Calvo [6].

Мета дослідження: гістохімічним методом поєднано з кількісною оцінкою результатів фарбування засобами комп'ютерної мікроспектрофотометрії встановити особливості окиснювальної модифікації білків у фібриноїді базальної пластинки плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних залежно від форми запалення посліду.

Матеріал і методи. Вивчалися процеси ОМБ у фібриноїді базальної пластинки плаценти при гострих і хронічних формах базального децидуїту та хоріонамніоніту. Усього досліджено 198 плацент, у тому числі з метою порівняння вивчені плаценти при фізіологічній вагітності та спостереження ЗДАВ без запалення посліду. Кількість спостережень у конкретних групах дослідження надані у таблицях 1 та 2.

Матеріал фіксували у 10% водному нейтральному розчині формаліну 24 години, після чого проводили спиртову дегідратацію та заливку в парафін за стандартною процедурою. На серійних гістологічних зрізах 5 мкм завтовшки ставили гістохімічну реакцію з бромфеноловим синім на "кислі" та "основні" білки з бромфеноловим синім за Mikel Calvo, дотримуючись усіх процедур стандартизації [5].

Отримували цифрові копії зображення за допомогою мікроскопа Delta Optical Evolution 100 (планахроматичні об'єктиви) та цифрової камери Olympus SP-550UZ. У середовищі комп'ютерної програми ImageJ (1.48, W.Rasband, National Institutes of Health, USA) у системі оцінки кольору RGB визначали коефіцієнт R/B за алгоритмом [7]. Коефіцієнт R/B слугував показником співвідношення між аміно- та карбоксильними групами в білках конкретної локалізації, тобто був мірою ОМБ.

Для коефіцієнта R/B обраховували середню арифметичну та її похибку, розбіжності у середніх тенденціях перевіряли за допомогою непарного критерію Стьюдента після позитивної перевірки вибірки на нормальність розподілу в ній за критерієм Shapiro-Wilk (комп'ютерна програма PAST 3.14, вільна ліцензія, O.Hammer, 2016) [8].

Результати дослідження та їх обговорення.

У плаценті розрізняють три види фібриноїду: інтервільозний фібриноїд (розташований між хоріальними ворсинками і зв'язаний з їхньою поверх-

нею), фібриноїд хоріальної пластинки (вкриває хоріальну пластинку з боку інтервільозного простору), фібриноїд базальної пластинки (частина його вкриває базальну пластинку з боку інтервільозного простору, а інша частина включена до складу самої базальної пластинки на різну глибину і розташовується між гістологічними структурами базальної пластинки) [1, 2]. У даному дослідженні вивчався стан фібриноїду базальної пластинки.

Слід відзначити, що при візуальній оцінці гістохімічних препаратів, які пофарбовано за Mikel Calvo, видно, що фібриноїд базальної пластинки чітко профарбовується, добре упізнається завдяки характерній локалізації і неправильній формі (рисунк). Навіть без кількісного дослідження видно, що фібриноїд забарвлюється в кольори, у яких переважає червоний компонент.

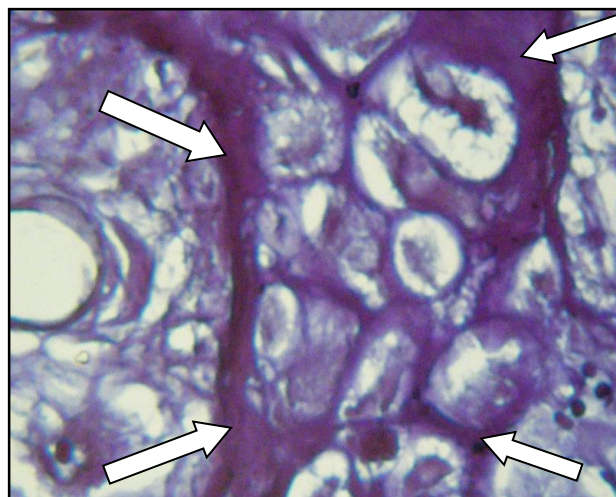


Рисунок. Базальна пластинка плаценти. Спостереження фізіологічної вагітності. Фібриноїд вказано стрілками. Гістохімічна методика на "кислі" та "основні" білки з бромфеноловим синім за Mikel Calvo. Об.40^x. Ок.10^x

Усереднені дані щодо коефіцієнту R/B у фібриноїді базальної пластинки плаценти при фізіологічній вагітності та при ЗДАВ наведені у таблиці 1. З наведених даних видно, що при фізіологічній вагітності коефіцієнт R/B у фібриноїді в середньому є суттєво вищим за одиницю, тобто співвідношення між "кислими" та "основними" білками в фібриноїді базальної пластинки навіть в нормі зміщено в бік "кислих" білків. При ЗДАВ коефіцієнт R/B у фібриноїді базальної пластинки є ще більшим, ніж при фізіологічній вагітності, що слід визначити як зростання інтенсивності ОМБ у фібриноїді при ЗДАВ. Це зростання, з огляду на фактичну різницю між середніми ариф-

Таблиця 1

Коефіцієнт R/V у фібриноїді базальної пластинки плаценти (гістохімічна методика на “кислі” та “основні” білки з бромфеноловим синім за Mikel Salvo) при фізіологічній вагітності та залізодефіцитній анемії вагітних (M±m)

Структури базальної пластинки	Групи дослідження	
	Спостереження фізіологічної вагітності (n=20)	Спостереження залізодефіцитної анемії вагітних без запалення посліду (n=21)
Фібриноїд базальної пластинки	1,25±0,011	1,32±0,012 P=0,022

Таблиця 2

Коефіцієнт R/V у фібриноїді базальної пластинки плаценти (гістохімічна методика на “кислі” та “основні” білки з бромфеноловим синім за Mikel Salvo) при поєднанні різних форм запалення посліду та залізодефіцитної анемії вагітних (M± m)

Групи дослідження	Спостереження запалення посліду при вагітності без анемії	Спостереження запалення посліду при залізодефіцитній анемії вагітних
Базальний децидуїт гострий	1,44±0,014 (n=16)	1,46±0,018 (n=15) P>0,05
Базальний децидуїт хронічний	2,34±0,019 (n=21)	2,89±0,022 (n=20) P<0,001
Хоріонамніоніт гострий	1,28±0,012 (n=23)	1,33±0,018 (n=21) P>0,05
Хоріонамніоніт хронічний	2,07±0,017 (n=20)	2,54±0,018 (n=21) P<0,001

метичними у досліджених вибірках, слід оцінити як помірне.

Середні дані про коефіцієнт R/V у фібриноїді базальної пластинки плаценти при різних формах запалення посліду наведені у таблиці 2.

З наведених даних видно, що при всіх вивчених формах запалення посліду, за винятком гострої форми хоріонамніоніту, коефіцієнт R/V у фібриноїді базальної пластинки в середньому суттєво зростає (P<0,05). Найбільше зростання коефіцієнту R/V відмічено при хронічній формі базального децидуїту.

Цікаво, що поєднання запалення посліду зі ЗДАВ дало статистично значуще підвищення коефіцієнта R/V порівняно із запаленням посліду без анемії лише для хронічних форм базального децидуїту та хоріонамніоніту. Тобто, фонові ЗДАВ при різних формах запалення посліду суттєво впливає на перебіг процесів ОМБ у фібриноїді базальної пластинки тільки у спостереженнях хронічного запалення.

Висновки. 1. При залізодефіцитній анемії у фібриноїді базальної пластинки помітна помірніша інтенсифікація процесів окиснювальної модифікації білків порівняно з фізіологічною вагітністю. 2. При запаленні посліду має місце суттєве зростання інтенсивності процесів окиснювальної модифікації білків у фібриноїді базальної пластинки, за винятком гострої форми хоріонамніоніту. Фонові залізодефіцитна анемія при різних формах запалення посліду суттєво впливає на перебіг процесів окиснювальної модифікації білків у фібриноїді базальної пластинки тільки для хронічних форм запалення посліду.

Перспективи подальших досліджень. Вважаємо перспективним доповнити дані про окиснювальну модифікацію білків у фібриноїді плаценти при запаленні посліду результатами гістохімічних досліджень процесів обмеженого протеолізу.

Список використаної літератури

1. Benirschke K. Pathology of the human placenta. / K. Benirschke, G.J. Burton., R.N. Baergen. – 6th ed. – New York: Springer, 2012. – 974 p.
2. Pijnenborg R. Placental Bed Disorders / R. Pijnenborg, I. Brosens, R. Romero. – Cambridge: Cambridge University Press, 2010. – 301 p.
3. Цинзерлинг В.А. Перинатальные инфекции. (Вопросы патогенеза, морфологической диагностики и клинико-морфологических сопоставлений). Практическое руководство / В.А. Цинзерлинг, В.Ф. Мельникова. – СПб.: Элби СПб, 2002. – 352 с.
4. Coughlan M.T. Altered placental oxidative stress status in gestational diabetes mellitus / M.T. Coughlan, P.P. Vervaart, M. Permezel, H.M. Georgiou // Placenta. – 2004. – Vol. 25. – P. 78-84.
5. Давиденко І.С. Заходи стандартизації гістохімічної методики на окиснювальну модифікацію білків / І.С. Давиденко // Укр. мед. альманах. – 2013. – № 3 (додаток). – С. 180-181.
6. Давиденко І.С. Алгоритм одержання показника “R/V” (для вимірювання окиснювальної модифікації білків по гістохімічним та цитохімічним препаратам) за допомогою комп’ютерної програми ImageJ (W.Rasband, National Institute of Health, USA, 2015) / І.С. Давиденко, О.М. Давиденко // Science and Civilization – 2016: materials of the XII Inter-

national Scientific and Practical Conference (30 January – 07 February 2016). – Vol. 15. – Medicine. Biological sciences. Chemistry and chemical technology. – Sheffield: Science and Education LTD. – 2016. – P. 47-49. 7. Ferreira T. Image J. User Guide / T. Ferreira, W. Rasband. – New York: National Institute of Health, 2012. – 187 p. 8. Hammer Ø. PAST: Paleontological Statistics, Version 3.14. Reference manual / Ø. Hammer. – Oslo: Natural History Museum University of Oslo, 2016. – 243 p.

ГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПРОЦЕССОВ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ В ФИБРИНОИДЕ БАЗАЛЬНОЙ ПЛАСТИНКИ ПЛАЦЕНТЫ В СОЧЕТАНИЕ ВОСПАЛЕНИЯ ПЛАЦЕНТЫ И ЖЕЛЕЗОДЕФИЦИТНОЙ АНЕМИИ БЕРЕМЕННЫХ

Резюме. На основании проведенных исследований с использованием гистохимической реакции с бромфеноловым синим на “кисле” и “основне” белки по Mikel Calvo установлено следующее. При железодефицитной анемии у фибриноиде базальной пластинки отмечается умеренная интенсификация процессов окислительной модификации белков в сравнении с физиологической беременностью. При воспалении плаценты имеет место существенный рост интенсивности процессов окислительной модификации белков в фибриноиде базальной пластинки, за исключением острой формы хориоамнионита. Фоновая железодефицитная анемия при различных формах воспаления плаценты существенно влияет на ход процессов окислительной модификации белков в фибриноиде базальной пластинки только для хронических форм воспаления плаценты.

Ключевые слова: окислительная модификация белков, воспаление плаценты, железодефицитная анемия беременных, фибриноид базальной пластинки.

HISTOCHEMICAL EVALUATION OF THE PROCESSES OF PROTEIN OXIDATIVE MODIFICATION IN THE FIBRINOID OF THE PLACENTAL BASAL LAMINA COMBINED WITH PLACENTAL INFLAMMATION AND IRON-DEFICIENCY ANEMIA OF GRAVIDAS

Abstract. The results of the research based on histochemical reactions with Bromophenol Blue on “acidic” and “basic” proteins according to Mikel Calvo method have found the following. A moderate intensification of the processes of protein oxidative modification is observed in iron-deficiency anemia in the fibrinoid of basal lamina in comparison with physiological pregnancy. There is a significant increase in the intensity of protein oxidative modification in the fibrinoid of basal lamina except acute form of chorioamnionitis. Underlying iron-deficiency anemia in various forms of inflammation in the placenta significantly affects the processes of protein oxidative modification in the fibrinoid of basal lamina in case of chronic inflammation of the placenta only.

Key words: protein oxidative modification, inflammation of the placenta, iron-deficiency anemia in gravidas, fibrinoid of basal lamina.

Higher State Educational Institution of Ukraine
“Bukovinian State Medical University” (Chernivtsi)

Надійшла 12.09.2016 р.
Рецензент – проф. Кравченко О.В. (Чернівці)