

УДК: 618.12-053.18-022-091.8-078-02:618.3-06

DOI: 10.15587/2313-8416.2015.43299

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ МАТОЧНЫХ ТРУБ ПЛОДОВ С ПРИЗНАКАМИ ВНУТРИУТРОБНОГО ИНФИЦИРОВАНИЯ

© Л. С. Куприянова

В результате проведенного исследования установлено, что строение маточных труб плодов с признаками внутриутробного инфицирования отличается от такового у здоровых плодов склеротическими и атрофическими процессами в слизистой оболочке и собственной пластинке слизистой, что проявляется массивным разрастанием соединительной ткани в данных слоях и подтверждено иммуногистохимическим методом. Выявленные особенности могут проявиться развитием первичного бесплодия

Ключевые слова: плод, беременность, маточная труба, внутриутробное инфицирование, соединительная ткань, первичное бесплодие

Aim – immunohistochemical detection of structural features of the uterine tubes of fetuses with signs of intrauterine infection.

Methods: anthropometric, macroscopic, organometric, histological, immunohistochemical, statistical.

Object of research – the uterine tubes of antenatal dead fetuses. The control group consisted of 25 fetuses of healthy mothers; the comparison group is 15 fetuses with signs of intrauterine infection. Fetal infection confirmed by laboratory methods; the presence of TORCH infections, cytomegalovirus, herpes infection and chlamydial infection is determined.

Results: indicators of weight and body length of the fetus of the comparison group were significantly reduced. Unidirectional changes are established in the definition of the mass and the length of the uterine tubes of fetuses with signs of intrauterine infection. Massive growth of connective tissue in the mucosa, the mucous membrane and muscle membrane of wall of the uterine tube of fetus in the comparison group is shown by histological methods. Violation of collagen formation in the connective tissue in the uterine tubes of fetuses with signs of intrauterine infection is found by immunohistochemistry method.

Conclusions: The reduction of anthropometric and organometric indicators in fetuses of comparison group is shown. Sclerosis and atrophy, as well as violations of collagen-synthesizing function are predominated in the main structural components of the wall of the uterine tube of fetuses in the comparison group. The revealed changes in the future ontogenesis may lead to the development of primary infertility

Keywords: fetus, pregnancy, intrauterine infection, connective tissue, primary infertility

1. Введение

На современном этапе развития медицинской науки проблема внутриутробного инфицирования остается ведущей [1]. Несмотря на многочисленные работы относительно влияния инфекционного процесса на эмбрио- и фетогенез, а также внедрение полученных результатов в практическую деятельность акушеров-гинекологов, неонатологов и педиатров, процент детской смертности и инвалидизации при данной патологии высок и не имеет тенденции к снижению [2, 3]. Основным проявлением влияния инфекционного процесса на закладку и формирование плода является нарушение структуры и функции его внутренних органов. Состояние хронической гипоксии и репликация вируса в клетках плода способствуют формированию функциональной незрелости и недостаточности в дальнейшем его внутренних органов [4].

2. Обоснование исследования

В настоящее время врачи акушеры-гинекологи, изучающие патогенез первичного бесплодия все чаще поднимают вопрос о том, что причиной его, зачастую, являются патологические изменения в женских половых органах, развивающиеся в период внутриутробно-

го развития [5]. Однако отсутствие стратегии ведения женщины от периода внутриутробного развития до старости приводит к неправильной трактовке существующих проблем репродукции, а также затрудняет определение причинно-следственных взаимоотношений формирования соматического и репродуктивного здоровья. Весомое значение в преодолении этих трудностей играет углубленное изучение особенностей строения женских половых органов плодов с признаками внутриутробного инфицирования. Несмотря на многочисленные публикации относительно влияния инфекционной патологии на закладку и формирование женских половых органов плода, иммуногистохимические особенности строения маточных труб плодов с признаками внутриутробного инфицирования достаточно не изучены.

Цель исследования – выявление иммуногистохимических особенностей строения маточных труб плодов с признаками внутриутробного инфицирования.

3. Материалы и методы

Объектом исследования послужили маточные трубы плодов. В группу контрольных наблюдений вошли 25 плодов от матерей, беременность у которых

протекала физиологично (по данным медицинских карт развития беременности). Группу сравнения составили 15 плодов с признаками внутриутробного инфицирования.

Плоды исследуемых групп погибли антенатально в сроке гестации 29–36 недель вследствие острого нарушения маточно-плацентарного кровообращения, а также плодово-плацентарного кровообращения.

По данным медицинской документации средний возраст матерей группы сравнения составил $29,6 \pm 7,3$ лет (от 21 до 35 лет). Из осложнений беременности обращали на себя внимание следующие: пиелонефрит – в 2-х случаях, отеки беременных и повышение АД – в 3-х наблюдениях, преэклампсия легкой степени – в 1-м случае, гнойный кольпит и вульвовагинит – у 4-х беременных. Все женщины проходили лечение по поводу угрозы прерывания беременности в сроках 12–14 недель (7 женщин) и 16-18 недель (8 беременных).

Инфицирование фето-плацентарного комплекса подтверждено данными УЗИ-исследования: так, в 5-ти наблюдениях было диагностировано многоводие, в 7-ми случаях – дисфункция плаценты, у 2-х женщин – одновременно выявлены оба вышеуказанных осложнения. У плодов имели место признаки фетометрической диспропорции и подкожного лимфатического отека и асцита. Из результатов клинико-лабораторных исследований известно, что: 5 женщин являлись носителями вируса герпеса, у 6-ти беременных была выявлена TORCH – инфекция, у 2-х женщин установлена цитомегаловирусная инфекция, у 2-х беременных диагностирована хламидийная инфекция.

Инфицирование плодов группы сравнения подтверждено комплексом современных лабораторных методов исследования (бактериологическим и биохимическим методами, а также полимеразной цепной реакцией) участков последа и внутренних органов плодов.

Методы исследования: антропометрический, макроскопический, органомерический, гистологический, иммуногистохимический, статистический.

Антропометрическим методом определялись показатели массы и длины тела плодов исследуемых групп. Органомерическим методом установлены показатели размеров и массы маточных труб плодов.

Из каждого органа вырезались по три кусочка, которые, после проводки по спиртам различной концентрации, фиксировались в 10 % растворе нейтрального формалина. Затем материал заливали в парафин с целью изготовления блоков. С каждого блока производили серийные срезы толщиной 1–3 мкм [6]. Изготовленные препараты окрашивали гистологическим методом (гематоксилином и эозином); иммуногистохимическим методом с использованием МКАт к коллагенам I, III и IV типов (непрямым методом Кунса в модификации M. Brosman (1979) [7]. Интенсивность свечения препаратов, обработанных МКАт, определялась при использовании метода количественного определения содержания антигена в биологических тканях и выражалась в условных единицах свечения (усл. ед. св.) [8].

Статистическое исследование проводилось на микроскопе Olympus BX-41 с использованием программ DP-Soft 4 (Version 3:1) и Microsoft Excel [9]. Полученные

цифровые данные обработаны методами вариационной статистики с вычислением: средней арифметической, среднеквадратичного отклонения, достоверности разницы, средней ошибки средней арифметической [9].

4. Результаты исследования

Антропометрическим методом были установлены усредненные показатели массы и длины тела плодов исследуемых групп: масса тела плодов группы контроля составила $3,24 \pm 0,11$ кг, группы сравнения – $0,47 \pm 0,02$ м; длина тела плодов группы контроля достигала значения $0,49 \pm 0,02$ м, в группе сравнения – $0,43 \pm 0,01$ м. Анализируя полученные данные, можно сказать, что антропометрические показатели тела плодов с признаками внутриутробного инфицирования достоверно снижены в сравнении с таковыми в группе контрольных наблюдений ($p < 0,05$).

Макроскопически органы плодов исследуемых групп были извитой формы, с гладкой белесоватой поверхностью. Четко определялись значительные изгибы и физиологические сужения, общее число которых варьировало от 2-х до 8-ми в каждой трубе.

Органомерические показатели органов плодов исследуемых групп представлены в табл. 1.

Таблица 1
Показатели массы и длины маточных труб
плодов исследуемых групп

Группа	Масса маточной трубы, кг	Длина маточной трубы, м
Группа контроля	$1,97 \pm 0,07 \times 10^{-3}$	$29,19 \pm 1,02 \times 10^{-3}$
Группа сравнения	$1,42 \pm 0,05 \times 10^{-3}$	$26,17 \pm 0,92 \times 10^{-3}$

Примечание. * $p < 0,05$ (по сравнению с контролем)

Анализируя данные табл. 1, можно прийти к выводу, что усредненные показатели массы и длины маточных труб плодов с признаками внутриутробного инфицирования достоверно снижены в сравнении с таковыми у плодов от здоровых матерей.

При обзорном микроскопическом исследовании препаратов, окрашенных гематоксилином-эозином, установлено, что стенка маточной трубы плодов исследуемых групп представлена тремя основными компонентами: слизистой, мышечной и серозной оболочками. Граница между слоями четко выражена.

Слизистая оболочка состоит из слоя призматического эпителия и собственной пластинки во всех наблюдениях. В группе контрольных наблюдений складчатость слизистой хорошо выражена, имеют место вторичные, третичные и четвертичные складки, общее число которых достигает от 30-ти до 40-а. Собственная пластинка слизистой оболочки стенки маточной трубы представлена рыхлой волокнистой соединительной тканью. В мышечной оболочке определяются три слоя гладкой мышечной ткани, в составе которых мышечные пучки расположены правильно, однородны по форме и величине. Сосуды стенки маточной трубы тонкостенные, умеренно наполнены кровью.

В строении слизистой оболочки плодов группы сравнения четвертичные складки имеют место в еди-

нических случаях, а общее число складок в среднем составляет от 15 до 27, в отдельных полях зрения складки вообще не визуализируются. Наряду с этим отмечается массивное разрастание соединительной ткани, как в слизистой оболочке, так и в собственной пластинке слизистой стенки маточной трубы. Мышечные пучки в составе слоев среднего слоя стенки маточной трубы хаотично расположены, неоднородны по форме и величине. Между ними отмечается разрастание грубой волокнистой соединительной ткани, что способствует нарушению структурной взаимосвязи между ними. Сосуды стенки органа полнокровны, стенки их утолщены.

Также в слизистой оболочке и собственной пластинке определяется диффузная клеточная инфильтрация из лимфоцитов, плазмочитов и единичных лейкоцитов.

Серозная оболочка стенки маточной трубы во всех наблюдениях представлена соединительной тканью, покрытой снаружи мезотелием.

Иммуногистохимическим методом установлено, что в строении соединительной ткани в составе основных структурных компонентов стенки маточной трубы плодов исследуемых групп имеют место коллагены I, III и IV типов. Показатели оптической плотности свечения коллагенов представлены в табл. 2.

Таблица 2

Показатели оптической плотности свечения коллагенов в составе структурных компонентов стенки маточной трубы плодов исследуемых групп, (усл. ед. св.)

Группа	Слой стенки матки	Коллаген I типа	Коллаген III типа	Коллаген IV типа
Группа контроля	слизистая оболочка	0,112±0,004	0,215±0,008	0,103±0,004
	мышечная оболочка	0,137±0,005	0,269±0,009	0,154±0,005
	серозная оболочка	0,141±0,005	0,335±0,012	0,168±0,006
Группа сравнения	слизистая оболочка	0,169±0,006*	0,281±0,010*	0,087±0,003*
	мышечная оболочка	0,205±0,007*	0,327±0,011*	0,128±0,004*
	серозная оболочка	0,184±0,006*	0,368±0,012*	0,134±0,005*

Примечание. * $p < 0,05$ (по сравнению с контролем)

Данные табл. 2 свидетельствуют о том, что в структуре соединительной ткани основных компонентов стенки маточной трубы плодов группы сравнения показатели оптической плотности свечения коллагенов I и III типов достоверно повышены, а коллагена IV типа достоверно снижены в сравнении с таковыми в группе контрольных наблюдений.

По данным современной отечественной и зарубежной литературы выявленные изменения в структуре соединительной ткани в составе основных структурных компонентов стенки маточной трубы могут привести к нарушению перистальтики маточной трубы, что будет способствовать наступлению внематочной беременности и развитию первичного бесплодия

[10, 11]. Преобладание в составе соединительной ткани молодых незрелых типов коллагена может быть проявлением дисплазии соединительной ткани в ответ на хроническую гипоксию, развивающуюся при внутриутробном инфицировании [12, 13].

5. Обсуждение результатов

В результате проведенного исследования показано, что строение стенки маточной трубы плодов с признаками внутриутробного инфицирования отличается от такового у плодов от здоровых матерей преобладанием склеротических и атрофических процессов в слизистой и мышечной оболочках, что проявляется снижением складчатости слизистой и массивным разрастанием соединительной ткани. Иммуногистохимическим методом установлено, что соединительная ткань в составе основных компонентов стенки маточной трубы представлена преимущественно незрелыми коллагенами I и III типов, в то время как содержание зрелого коллагена IV типа снижено. Диффузная клеточная инфильтрация слизистой оболочки и ее собственной пластинки может быть началом иммунного воспаления в органе, а также проявлением хронического воспаления при внутриутробном инфицировании.

6. Выводы

1) Антропометрическим методом установлено достоверное снижение показателей массы и длины тела плодов с признаками внутриутробного инфицирования в сравнении с таковыми в группе контрольных наблюдений. Однонаправленные изменения отмечаются при изучении показателей массы и длины маточных труб плодов группы сравнения.

2) В слизистой оболочке, собственной пластинке слизистой и мышечной оболочках стенки маточной трубы плодов группы сравнения преобладают склеротические и атрофические изменения, основным проявлением которых является массивное разрастание соединительной ткани. Наряду с этим в слизистой оболочке и ее собственной пластинке имеют место признаки хронического и начального этапа иммунного воспаления.

3) Иммуногистохимическим методом установлены признаки нарушения коллагенообразования в составе соединительной ткани основных компонентов стенки маточной трубы плодов с признаками внутриутробного инфицирования.

4) Установленные гистологические и иммуногистохимические особенности строения стенки маточной трубы плодов с признаками внутриутробного инфицирования в дальнейшем онтогенезе могут способствовать нарушению перистальтики маточной трубы, затруднению продвижения яйцеклетки и развитию первичного бесплодия.

5) Выявленные признаки воспалительных изменений в стенке маточной трубы плодов группы сравнения могут привести к сужению просвета маточной трубы и формированию спаечной болезни.

7. Перспективы дальнейших исследований

- 1) Выявить особенности строения матки и яичников плодов с признаками внутриутробного инфицирования.
- 2) Изучить иммуногистохимические особенности эндотелин-продуцирующей активности сосудистого компонента стенки маточной трубы плодов с признаками внутриутробного инфицирования.

Литература

1. Знаменская, Т. К. Приоритетные направления развития перинатальной службы в Украине [Текст] / Т. К. Знаменская // Неонатология, хирургия та перинатальна медицина. – 2011. – Т. 1, № 2. – С. 6–11.
2. Башмакова, Н. В. Роль прогнозирования интранатальных факторов риска [Текст] / Н. В. Башмакова, Е. Н. Кравченко, В. Г. Лопушанский // Акушерство и гинекология. – 2008. – № 3. – С. 57–61.
3. Апресян, С. В. Беременность и роды при экстрагенитальных заболеваниях [Текст] / С. В. Апресян; под ред. В. Е. Радзинского. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2009. – 457 с.
4. Шунько, С. С. Впровадження концепції подальшого розвитку перинатальної допомоги в Україні [Текст] / С. С. Шунько // Неонатология, хирургия та перинатальна медицина. – 2011. – Т. 1, № 1. – С. 10–16.
5. Белова, О. Прогноз розвитку дітей з дуже малою масою тіла при народженні: міжнародний і вітчизняний досвід [Текст]: зб. матер. / Белова О. // Зб. матеріалів XIII медичного конгресу студентів та молодих вчених. – Тернопіль, 2009. – С. 101.
6. Субботин, М. Я. Гистологическая техника [Текст] / М. Я. Субботин, С. С. Лагучев, Т. Г. Оганесян и др. – Москва: Государственное издательство медицинской литературы «Медгиз», 1954. – 167 с.
7. Кошарний, В. В. Використання імуногістохімічних методів дослідження в ембріології [Текст] / В. В. Кошарний, В. Ф. Шаторна // Патологія. – 2009. – Т. 6, № 2. – С. 66–69.
8. Патент на корисну модель «Спосіб кількісного визначення вмісту антигену в біологічних тканинах» [Текст] / Губіна-Вакулік Г. І., Марковський В. Д., Сорокіна І. В., Кіхтенко О. В., Купріянова Л. С., Сидоренко Р. В. – u 200906730, 2009.
9. Атраментова, Л. А. Статистические методы в биологии [Текст] / Л. А. Атраментова, О. М. Утевская. – Горловка, 2008. – 247 с.
10. Данкович, Н. О. Особливості соматичної захворюваності, розумового, психоемоціонального та фізичного розвитку дівчаток, які народились із затримкою внутрішньоутробного розвитку [Текст] / Н. О. Данкович // Педіатрія, акушерство та гінекологія. – 2004. – № 1. – С. 138–140.
11. Клеменов, А. В. Дисплазия соединительной ткани и беременность [Текст] / А. В. Клеменов, О. Н. Ткачева, А. Л. Верткин // Терапевтический архив. – 2004. – № 11. – С. 80–83.

12. Назаренко, Л. Г. Сполучнотканинні дисплазії – проблема сучасного акушерства та перинатології [Текст] / Л. Г. Назаренко, О. В. Неєлова // Педіатрія, акушерство та гінекологія. – 2005. – № 6. – С. 93–96.
13. Охупкіна, О. В. Віко-статеві особливості клінічного перебігу диспластикозалежної патології у дітей [Текст] / О. В. Охупкіна // Вісник проблем біології і медицини. – 2011. – Вип. 2, Т. 1. – С. 147–149.

References

1. Znamenskaya, T. K. (2011). Development Priorities of perinatal services in Ukraine. *Neonatologiya, hirurgiya that perinatal medicine*, 2, 6–11.
2. Bashmakova, N. V., Kravchenko, E. N., Lopushansky, V. G. (2008). Role predicting intrapartum risk factors. *Obstetrics and Gynecology*, 3, 57–61.
3. Apresian, S. V., Radzinsky, V. E. (2009). *Pregnancy and childbirth at extragenital diseases*. Moscow: GEOTAR – Media, 457.
4. Shunko, J. (2011). *Vprovadzheniya kontseptsii away rozvitku perinatalnoi in care to the Ukraini*. *Neonatologiya, hirurgiya that perinatal medicine*, 1, 10–16.
5. Belova, O. (2009). *forecast rozvitku ditey s duzhe maloyu masoyu tila at narodzhenni: mizhnarodny i vitchiznyany dosvid*. [ST. materialiv XIII Congress medichnogo studentiv that young vchenih]. Ternopil, 101.
6. Subbotin, M. J., Laguchev, S., Hovhannisyan, T. (1954). *Histological technique*. Moscow: State Publishing House of the medical literature “Medgiz”, 167.
7. Kosharnaya, V. V., Shatorna, V. F. (2009). *Vikoristannya imunogistohimichnih metodiv doslidzhennya in embriologii*. *Patologiya*, 2, 66–69.
8. Gubina-Vakulik, G. I., Markovsky, V. D., Sorokina, I. V., Kihthenko, O. V., Kupriyanova, L. S., Sidorenko, R. V. (2009). *Patent for korisnu model “Sposib kilkisnogo viznachennya vmistu antigen in biologichnih tkaninah», u200906730*.
9. Atramentova, L. A., Utevskaia, O. M. (2008). *Statistical Methods in Biology*. Gorlovka, 247.
10. Dankovich, N. O. (2004). *Osoblivosti somatichnoi zahvoryuvanosti, rozumovogo, psihoemotsionalnogo that fizichnogo rozvitku divchatok, yaki had been born iz zatrimkoyu vnutrishnoutrobnogo rozvitku*. *Pediatriya, obstetrics that ginekologiya*, 1, 138–140.
11. Klemenov, A. V., Tkacheva, A. V., Vertkin, A. L. (2004). *Connective tissue dysplasia and pregnancy*. *Therapeutic archive*, 11, 80–83.
12. Nazarenko, L. G., Neelova, O. V. (2005). *Spoluchnotkaninni displazii - a problem that perinatologii Suchasna Obstetrics*. *Pediatriya, obstetrics that ginekologiya*, 6, 93–96.
13. Ohapkina, O. V. (2011). *Viko statevi osoblivosti klinichnogo perebigu displastikozaleznoi patologii in ditey*. *News of the problems i biologii medicine*, 2, 147–149.

*Рекомендовано до публікації д-р мед. наук, професор Марковський В. Д.
Дата надходження рукопису 17.04.2015*

Купріянова Лариса Сергеевна, кандидат медичинських наук, доцент, кафедра криміналістики, судової медицини і психіатрії, Харківський національний університет внутрішніх дел МВД України, пр. 50-ліття СРСР, 27а, г. Харків, Україна, 61000; докторант, кафедра патологічної анатомії, Харківський національний медичинський університет, пр. Леніна, 4, г. Харків, Україна, 61000
E-mail: lara_kupriyanova@ukr.net