

Kupriianova Larisa. Immuno-histochemical features of the collagen synthesis of foetuses' ovarian from the mothers with pregnancy complications. *Journal of Education, Health and Sport*. 2016;6(12):929-940. eISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.292927>
<http://ojs.ukw.edu.pl/index.php/johs/article/view/4270>

The journal has had 7 points in Ministry of Science and Higher Education parametric evaluation. Part B item 754 (09.12.2016).
754 Journal of Education, Health and Sport eISSN 2391-8306 7

© The Author (s) 2016;

This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz, Poland

Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.

Received: 05.12.2016. Revised 20.12.2016. Accepted: 25.12.2016.

UDK: 618.11-053.18-092.18.018.23:618.3-06

IMMUNO-HISTOCHEMICAL FEATURES OF THE COLLAGEN SYNTHESIS OF FOETUSES' OVARIAN FROM THE MOTHERS WITH PREGNANCY COMPLICATIONS

Larisa Kupriianova

Kharkiv National Medical University, Kharkov, Ukraine

Abstract

As a material of our research, we took into account foetuses' ovarian at the gestation term from 21 to 42 weeks; and, as a result, all types of material we divided into few groups: foetuses from healthy mothers; foetuses from mothers with pre-eclampsia complications of pregnancy of different stages; foetuses from mothers with pregnancy's complications as a chronic infection. Research methods: organometrical, histological, immuno-histochemical, morphometrical, statistical. As a result of the complex research, in foetuses' ovarian from mothers with pregnancy complications of different types, we can see reducing of indicators of structural and functional activity of organs, increasing of collagen type I and III production; decreasing of collagen type IV production.

Key words: fetus, pregnancy, pre-eclampsia; infection, ovary.

ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ КОЛАГЕНОУТВОРЕННЯ В ЯЄЧНИКАХ ПЛОДІВ ВІД МАТЕРІВ С УСКЛАДНЕНОЮ ВАГІТНІСТЮ

Л. С. Купріянова

Харківський національний медичний університет

Дослідження є фрагментом комплексних науково-дослідницьких праць кафедри патологічної анатомії Харківського національного медичного університету МОЗ України «Патоморфологічні особливості формування плоду і новонародженого під впливом патології матері» (номер державної реєстрації 0110U001805, 2010-2014 рр.); «Вплив плодово-материнської інфекції на ембріогенез і фетогенез нащадків» (клініко-морфологічне дослідження) (номер державної реєстрації 0115u000987, 2015-2019 рр.), які входять до координаційного плану пріоритетних напрямів, затвердженого Міністерством охорони здоров'я України.

На сучасному етапі розвитку акушерсько – гінекологічної допомоги розроблено дієві методи діагностики і лікування захворювань жіночих статевих органів у дівчаток-підлітків та жінок [1]. Стаціонари устатковані сучасним обладнанням для своєчасної допомоги вагітним, породіллям і новонародженим. Але, не зважаючи на те, рівень перинатальних втрат, ускладнень вагітності та пологів постійно зростає [2]. Все частіше лікарі акушери-гінекологи звертають увагу на спадковість порушень гермінативної сфери, а також розвиток патології під впливом факторів, що діяли на закладку і формування жіночих статевих органів у внутрішньоутробний період. Насамперед, це стосується такої патології, як прееклампсія та хронічна інфекція нижніх статевих шляхів [3, 4]. Однак дотепер особливості будови яєчників плодів, народжених жінками з прееклампсією та хронічною інфекцією нижніх статевих шляхів, як чинників для виникнення порушень гермінативної функції невизначені.

Мета роботи – виявити імуногістохімічні особливості колагеноутворення в яєчниках плодів від матерів з ускладненою вагітністю.

Матеріал та методи дослідження. Матеріалом для дослідження послужили яєчники плодів. Весь матеріал було поділено на три групи: плоди від матерів, перебіг вагітності у яких був фізіологічним (група порівняння); плоди від матерів, вагітність у яких була ускладнена прееклампсією (ПЕ) різного ступеню тяжкості (основна група 1); плоди від матерів, вагітність у яких перебігла на тлі хронічної інфекції нижніх статевих

шляхів (основна група 2). Плоди загинули внаслідок гострого порушення матково-плодового кровообігу, порушення матково-плацентарного кровообігу, полі органної недостатності, гострої серцево-судинної недостатності. В залежності від основних етапів закладки яєчників всі плоди в групах було поділено додатково відповідно до строку гестації: 21-28 тижнів, 29-36 тижнів, 37-42 тижні. Тяжкість ПЕ матері була встановлена відповідно до даних медичної документації. Наявність інфекційного процесу було підтверджено даними клініко-лабораторних аналізів, а також специфічного імуногістохімічного дослідження крові матерів.

Методи дослідження: органоскопічний, гістологічний, імуногістохімічний, морфометричний, статистичний.

Органи плодів досліджуваних груп з початку оглядали і проводили заміри основних органометричних показників. Після цього з кожного органу, з різних його частин вирізали по три шматочки і піддавали проводці по спиртах різної концентрації. По завершенню фіксації матеріалу виготовляли блоки, з яких у подальшому проводили серійні зрізи товщиною 3-5 мкм. Зрізи забарвлювали гістологічними (гематоксиліном-еозіном та пікрофуксіном за ван-Гізон) і імуногістохімічними методами (прямий метод Кунса та пероксидазний метод з використанням МКАт до колагенів I, III та IV типів) [5, 6].

Гістологічне та морфометричне дослідження проводили на мікроскопі Olympus BX-41 з використанням програм Olympus Db-soft (Version 3:1).

Отримані результати досліджень підлягали статистичному аналізу на персональному комп'ютері з використанням ліцензійного пакету програм «Statistica 6.0» («Statsoft, Inc.»).

Отримані результати. Яєчники плодів досліджуваних груп у всіх випадках були розташовані біля бічної стінки малого тазу горизонтально. Форма фетальних гонад була овальною або округлою. Під час макроскопічного дослідження встановлено, що поверхня яєчників плодів групи порівняння була гладкою синювато-білуватого кольору. Поверхня органів плодів основних груп була бугристою: спостерігалась наявність кист, заповнених серозним вмістом. У всіх випадках розміри правого яєчника були більшими за такі у лівого.

Яєчники плодів досліджуваних груп були вкриті білковою оболонкою. В структурі фетальних гонад спостерігався чіткий розподіл на коркову і мозкову речовину. В корковій речовині мали місце так звані статеві тяжі.

Особливості будови яєчників плодів від матерів з фізіологічною вагітністю (група порівняння). Коркова речовина представлена фолікулярним і сполучно - тканинним компонентом. Фолікулярний компонент містить первинні та примордіальні фолікули (Рис. 1).

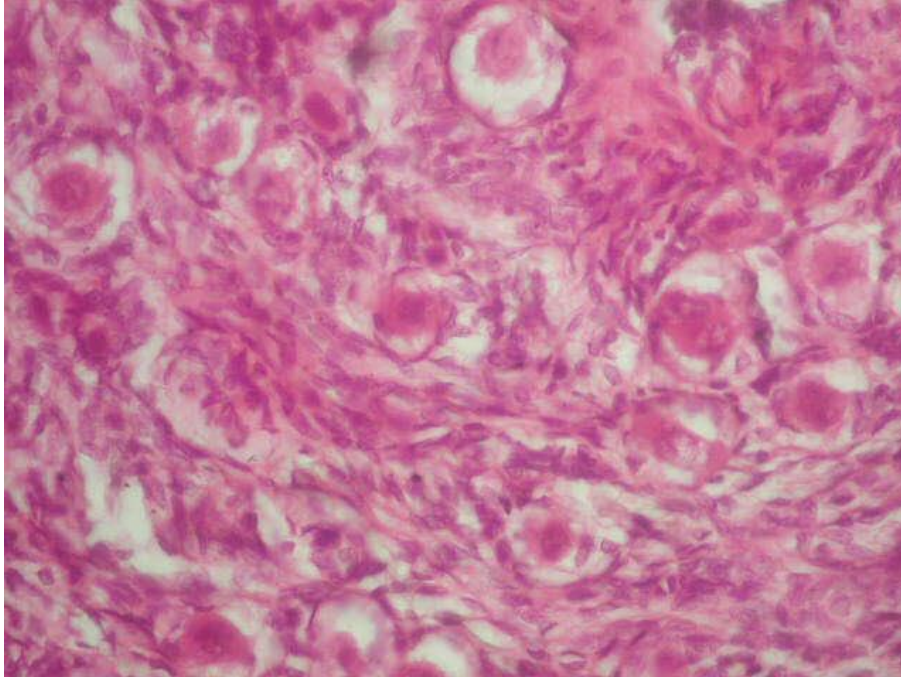


Рис. 1. Яєчник плода групи порівняння, строком гестації 29-36 тижнів. Примордіальні фолікули в корковій речовині яєчника. Забарвлення гематоксилином еозіном, x200.

У плодів в період гестації 37-42 тижні з'являються поодинокі зріючі, зростаючі та кистозно-атретичні фолікули. В базальних мембранах примордіальних та атретичних фолікулів імуногістохімічним методом виявлено наявність колагенів IV та III типів. Причому, якщо колаген IV типу виявлявся у вигляді дифузного інтенсивного світіння, то колаген III типу – у вигляді невеликих осередків зниженої інтенсивності. Показники світіння колагенів в базальних мембранах фолікулів представлено в таблиці 1.

Мозкова речовина яєчників представлена еластичними волокнами, незначною кількістю м'язових елементів та сполучної тканиною. При забарвленні пікрофуксіном за ван-Гізона сполучна тканина в структурі мозкової речовини була рожевого кольору.

Особливостями колаген-синтезуючої активності мозкової та коркової речовини яєчників плодів групи порівняння є наявність інтенсивного світіння колагену I типу і помірне світіння колагену III типу. Показники світіння колагенів в структурі сполучної

тканини мозкової і коркової речовини яєчників плодів досліджуваної групи наведено в таблиці 2.

Судини як коркової, так і мозкової речовини були тонкостінними, помірного кровонаповнення. При використанні МКАт до основних типів колагенів встановлено, що в структурі внутрішньої оболонки стінки судин превалює колаген IV типу, тоді як колаген III типу виявляється у вигляді невеликих осередків зниженої інтенсивності світіння. Показники світіння колагенів в структурі стінки судин наведено в таблиці 3.

Особливості будови яєчників плодів від матерів, вагітність у яких була ускладнена ПЕ різного ступеню тяжкості (основна група 1). В структурі коркової речовини плодів від матерів з ПЕ легкого ступеню мають місце примордіальні, первинні, зростаючі і поодинокі зріючі; у плодів від матерів з ПЕ середнього ступеню тяжкості виявляються первинні, примордіальні, зростаючі і велика кількість зріючі фолікулів; у плодів від матерів з ПЕ важкого ступеню спостерігається наявність примордіальних, первинних, зростаючих, зріючі і кистозно-атретичних фолікулів. Такий склад фолікулярного компонента може свідчити про те, що будова яєчників плодів від матерів з ПЕ легкого ступеню наближається до такої в групі порівняння; будова яєчників плодів від матерів з ПЕ середнього ступеню має ознаки гіперпластичного типу будови органа; будова яєчників плодів від матерів з ПЕ важкого ступеню має характерні ознаки гіпопластичного типу будови.

В базальних мембранах фолікулів яєчників плодів основної групи 1 спостерігалось збільшення осередків світіння колагену III типу. Колаген IV типу виявлявся у вигляді лінійного переривистого світіння в базальних мембранах (Рис. 2) Показники світіння колагенів в базальних мембранах фолікулів наведено в таблиці 1.

Як в корковій, так і в мозковій речовині яєчників плодів основної групи 1 спостерігається розростання сполучної тканини, яка має червоне забарвлення пікрофуксіном за ван-Гізона. В структурі сполучної тканини основних структурних компонентів органу виявлено колагени I та III типів (Рис. 3). Причому, якщо колаген I типу спостерігався у вигляді незначної кількості осередків світіння зниженої інтенсивності, то колаген III типу виявлявся у вигляді дифузного інтенсивного світіння.

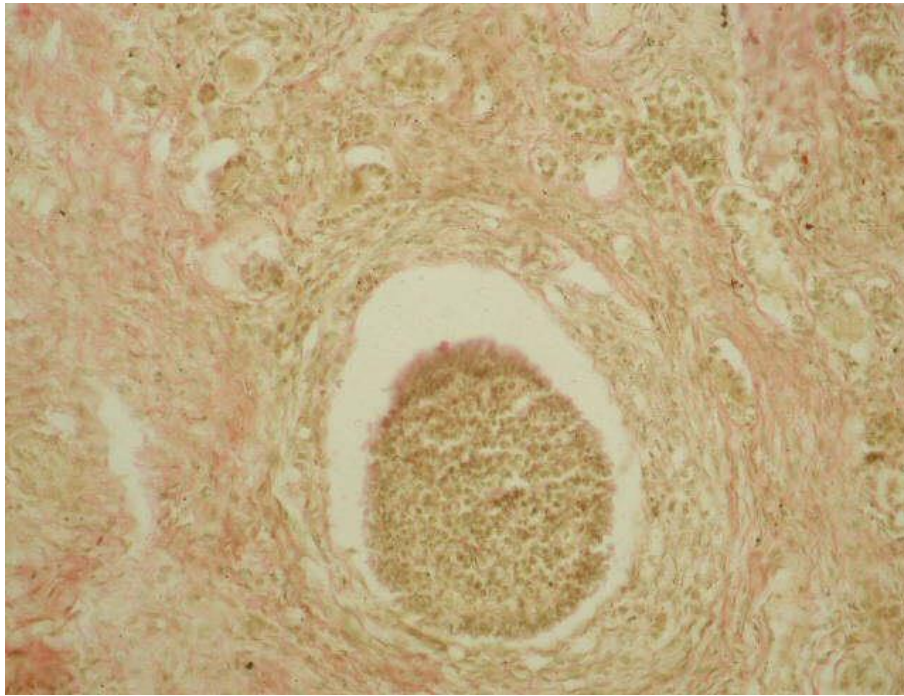


Рис. 2. Яєчник плода вiд матерi з ПЕ тяжкого ступеню строком гестацiї 29-36 тижнiв. Розростання сполучної тканини в корковiй речовинi яєчника i в базальнiй мембранi фолiкула. Забарвлення пiкрофуксином за ван-Гiзон. X200.

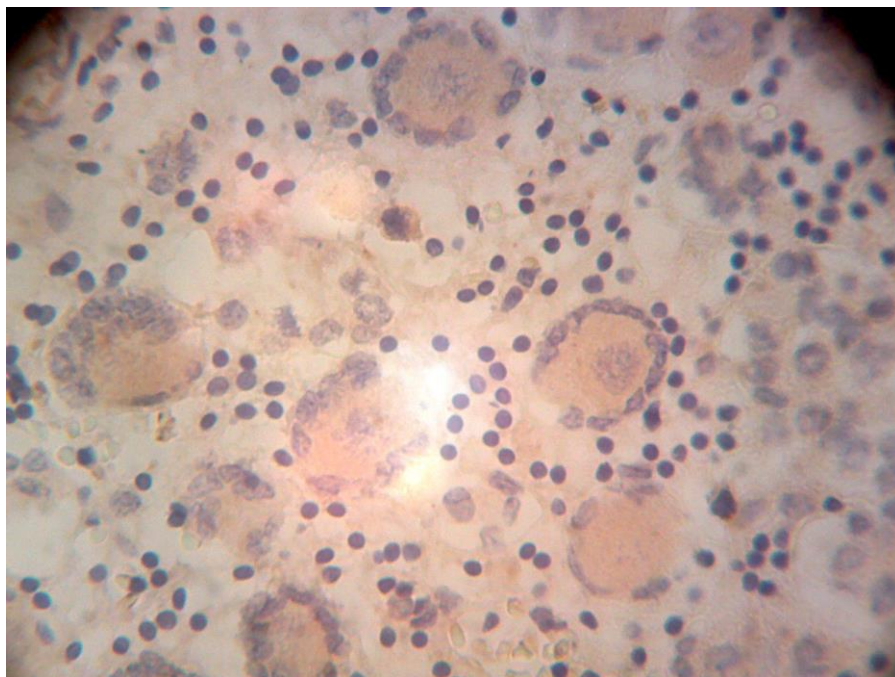


Рис. 3. Яєчник плода вiд матерi з ПЕ середнього ступеню тяжкостi строком гестацiї 29-36 тижнiв. Експресiя колагену III типу в корковiй речовинi яєчника. Iмуногiстохимiчний метод з використанням МКАт до колагену III типу, x400.

Показники світіння колагенів в структурі сполучної тканини в яєчниках плодів основної групи 1 наведено в таблиці 2.

Судини яєчників плодів від матерів з ПЕ були повнокровні, стінки їх потовщені, місцями з явищами гіалінозу. Під час проведення імуногістохімічного дослідження показано, що в структурі сполучної тканини стінки судин виявляються колагени IV та III типів. Причому інтенсивність світіння колагену III типу значно підвищена порівняно з такою колагену IV типу. Показники світіння колагенів в структурі стінки судин яєчників плодів основної групи 1 наведено в таблиці 3.

Особливості будови яєчників плодів від матерів, вагітність у яких перебігала на тлі хронічної інфекції нижніх статевих шляхів (основна група 2). Коркова речовина яєчників містить первинні і примордіальні фолікули; зростаючі, зріючі і кистозно-атретичні форми представлені поодинокими формами. Забарвлення пікрофуксіном за ван-Гізон виявило розростання сполучної тканини червоного кольору в базальних мембранах фолікулів яєчників. Використання МКАт до основних типів колагенів встановило, що в базальних мембранах зміст колагену IV типу значно знижений, а колагену III типу – підвищений (Рис. 4). Показники світіння колагенів наведено в таблиці 1.

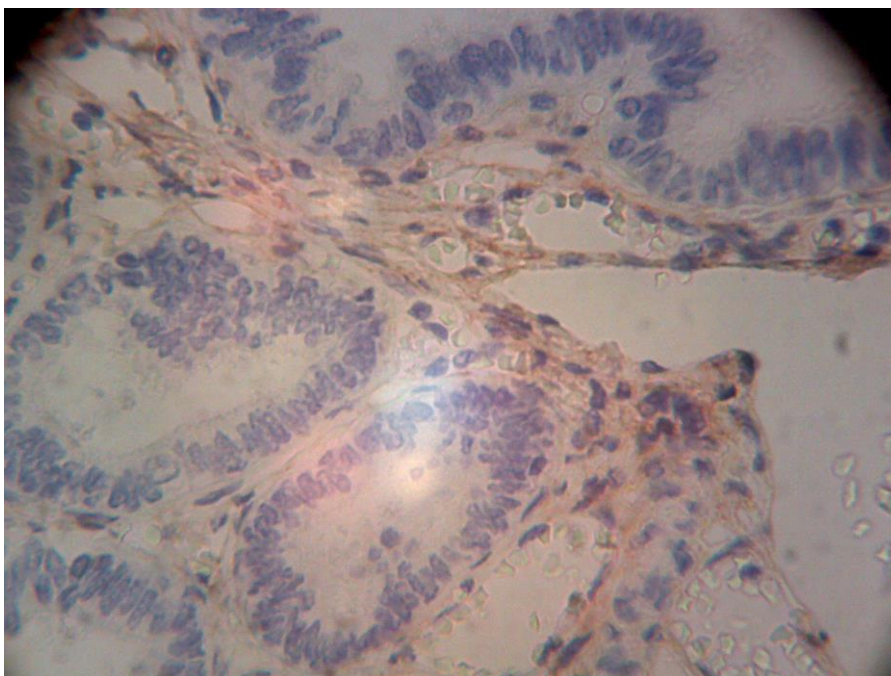


Рис. 4. Яєчник плода основної групи 2 строком гестації 29-36 тижнів. Колаген III типу в структурі базальних мембран фолікулів. Імуногістохімічний метод з використанням МКАт до колагену III типу, x400.

В структурі як коркової, так і мозкової речовини спостерігається розростання сполучної тканини, що призвело до порушення структури основних компонентів стінки органа (Рис. 5). Імуногістохімічним методом показано наявність колагенів I та III типів в структурі сполучної тканини, показники інтенсивності світіння наведено в таблиці 2.

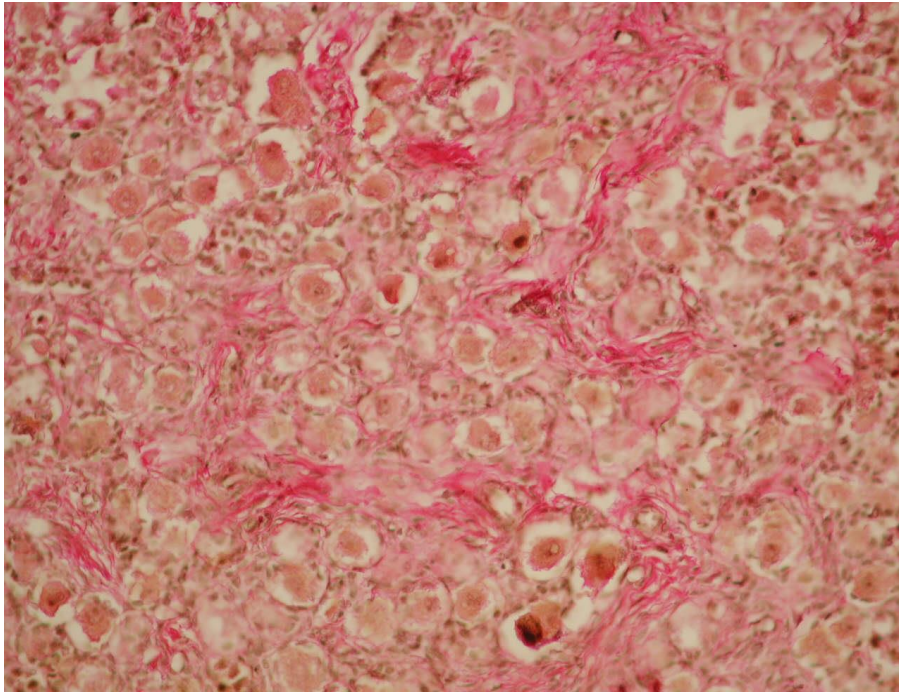


Рис.5. Яечник плода основної групи 2 строком гестації 37-42 тижні. Розростання сполучної тканини в мозковій речовині яєчника. Забарвлення пікрофуксіном за ван-Гізона, x200.

Судини яєчників плодів основної групи 2 різко повнокровні, стінки їх значно потовщені. Використання МКАт до основних типів колагенів виявило інтенсивне світіння колагену III типу в складі внутрішньої оболонки стінки судин, поодинокі осередки світіння зниженої інтенсивності колагену IV типу. Показники світіння колагенів в структурі стінки судин наведено в таблиці 3.

Аналізуючи дані таблиці 1, можна зробити висновок, що в структурі базальної мембрани фолікулів яєчників плодів основних груп 1 і 2 показники світіння колагену III типу значно підвищені відносно до таких в групі порівняння, а показники світіння колагену IV типу значно знижені. Причому, привертає увагу на себе той факт, що зміна показників знаходиться у прямому взаємозв'язку зі строком гестації, а також ступенем тяжкості ПЕ матері в основній групі 1.

Таблиця 1

**Інтенсивність світіння колагенів в структурі базальної мембрани фолікулів
яєчників плодів досліджуваних груп, (ум. од. св.)**

Колаген III типу – верхня строка

Колаген IV типу – нижня строка

Група	21-28 тижнів	29-36 тижнів	37-42 тижні
Група порівняння	0,42±0,01	0,48±0,02	0,52±0,02
	1,57±0,05	1,63±0,06	1,67±0,06
Основна група 1 ПЕ легкого ступеню	1,12±0,04*	1,21±0,04*	1,35±0,01*
	0,92±0,03**	0,85±0,03**	0,77±0,03**
ПЕ середнього ступеню	1,22±0,04*	1,28±0,04*	1,48±0,05*
	0,87±0,03**	0,73±0,03**	0,63±0,02**
ПЕ тяжкого ступеню	1,27±0,03*	1,37±0,05*	1,64±0,06*
	0,77±0,02**	0,65±0,02**	0,42±0,01**
Основна група 2 Інфекція	0,94±0,03*	1,15±0,04*	1,27±0,04*
	1,04±0,04**	0,91±0,03**	0,78±0,03**

* - Порівняння показників інтенсивності світіння колагену III типу

** - Порівняння показників інтенсивності світіння колагену IV типу

Таблиця 2

**Інтенсивність світіння колагенів в структурі сполучної тканини яєчників плодів
досліджуваних груп, (ум. од. св.)**

Колаген III типу – верхня строка

Колаген I типу – нижня строка

Група	21-28 тижнів	29-36 тижнів	37-42 тижні
Група порівняння	2,64±0,09	2,08±0,07	1,92±0,07
	3,78±0,13	4,36±0,15	4,48±0,16
Основна група 1 ПЕ легкого ступеню	4,21±0,15*	4,54±0,16*	4,73±0,17*
	1,75±0,06**	1,92±0,07**	2,05±0,07**
ПЕ середнього ступеню	4,57±0,16*	4,62±0,16*	4,91±0,17*
	1,82±0,06**	1,98±0,07**	2,28±0,08**
ПЕ тяжкого ступеню	5,25±0,18*	5,38±0,19*	5,82±0,20*
	1,91±0,07**	2,14±0,08**	2,57±0,09**
Основна група 2 Інфекція	3,16±0,11*	5,25±0,18*	5,71±0,19*
	4,31±0,15**	3,27±0,11**	3,08±0,11**

* - Порівняння показників інтенсивності світіння колагену III типу

** - Порівняння показників інтенсивності світіння колагену I типу

Дані таблиці 2 свідчать про вірогідне підвищення показників інтенсивності світіння колагену III типу та зниження показників інтенсивності світіння колагену I типу в структурі сполучної тканини яєчників плодів основних груп 1 і 2 відносно до таких в яєчниках плодів групи порівняння. Також має місце прямий тісний

взаємозв'язок між ступенем зміни показників світіння і строком гестації плоду в основних групах 1 і 2, та ступенем тяжкості ПЕ матері в основній групі 1.

Таблиця 3

Інтенсивність світіння колагенів IV і III типів в судинах яєчників плодів досліджуваних груп, (ум. од. св.)

Колаген IV типу – верхня строка

Колаген III типу – нижня строка

Група	21-28 тижнів	29-36 тижнів	37-42 тижні
Група порівняння	1,25±0,04 0,48±0,02	1,37±0,05 0,44±0,02	1,41±0,05 0,40±0,05
Основна група 1 ПЕ легкого ступеню	0,73±0,03* 0,98±0,03**	0,62±0,02* 1,02±0,04**	0,48±0,02* 1,19±0,04**
ПЕ середнього ступеню	0,65±0,02* 1,08±0,04**	0,49±0,02* 1,21±0,04**	0,32±0,01* 1,39±0,05**
ПЕ тяжкого ступеню	0,59±0,02* 1,15±0,04**	0,41±0,01* 1,25±0,04**	0,22±0,08* 1,44±0,05**
Основна група 2 Інфекція	1,12±0,04* 1,24±0,04**	0,74±0,03* 1,31±0,05**	0,51±0,002* 1,48±0,05**

* - Порівняння показників інтенсивності світіння колагену IV типу

** - Порівняння показників інтенсивності світіння колагену III типу

Дані таблиці 3 свідчать про переважання колагену III типу і зниження колагену IV типу в структурі стінки судин яєчників плодів основних груп 1 і 2 відносно до групи порівняння. Також виявлено прямий тісний взаємозв'язок між ступенем зміни показників світіння колагенів і строком гестації плодів, а також ступенем тяжкості ПЕ матері.

Таким чином, проведене комплексне імуногістохімічне дослідження колагеноутворення в яєчниках плодів від матерів з ПЕ різного ступеню тяжкості та хронічною інфекцією нижніх статевих шляхів виявило наступні особливості. В структурі базальних мембран фолікулів яєчників плодів основних груп 1 і 2 відмічається підвищення синтезу колагену III типу і зниження вмісту колагену IV типу. В структурі сполучної тканини мозкової і коркової речовини яєчників плодів від матерів з ускладненою вагітністю виявлено підвищення вмісту колагену III типу і зниження інтенсивності світіння колагену I типу. В судинах яєчників плодів основних груп 1 і 2 відносно до групи порівняння встановлено зниження інтенсивності світіння судинного колагену IV типу і підвищення синтезу незрілого колагену III типу. Описані імуногістохімічні особливості синтезу колагенів в яєчниках плодів від матерів з ПЕ знаходяться в прямому взаємозв'язку зі строком гестації плоду та ступенем тяжкості

ПЕ матері. В яєчниках плодів від матерів з хронічною інфекцією нижніх статевих шляхів ступінь встановлених змін варіює в залежності від строку гестації плоду.

Особливості синтезу основних типів колагенів в яєчниках плодів від матерів з ускладненою вагітністю можуть бути проявом порушення закладки і формування фетальних гонад на ранніх етапах органогенезу [7, 8]. Чинниками, які сприяють порушенню органогенезу можуть бути судинні і обмінні порушення в організмі вагітної при ПЕ, а також плацентарна дизфункція і ураження клітин вірусами на тлі хронічної інфекції [9, 10].

Висновки. 1. В структурі базальних мембран фолікулів яєчників плодів від матерів з ускладненою вагітністю показано підвищення синтезу колагену III типу і зниження продукції колагену IV типу.

2. В складі сполучної тканини основних компонентів фетальних гонад основних груп 1 і 2 встановлено інтенсивне світіння колагену III типу і зниження світіння колагену I типу.

3. В судинному компоненті яєчників плодів від матерів з ПЕ та хронічною інфекцією нижніх статевих шляхів виявлено підвищення показників світіння колагену III типу і зниження показників світіння колагену IV типу.

4. Описані особливості утворення колагенів в яєчниках плодів від матерів з ПЕ знаходяться в прямому взаємозв'язку зі строком гестації плоду та ступенем тяжкості ПЕ матері.

5. Ступінь прояву імуногістохімічних особливостей колагеноутворення в яєчниках плодів від матерів з хронічною інфекцією нижніх статевих шляхів залежить від строку гестації плоду.

6. Встановлені особливості синтезу основних типів колагенів можуть сприяти порушенню формування фолікулярного компоненту яєчників, підвищенню ендотелін-продукуючої активності органів, а також зниженню гормон-продукуючої функції фетальних гонад.

7. Порушення структури сполучної тканини в фолікулярному компоненті, в судинному компоненті яєчників може призвести до розвитку ендокринного або первинного безпліддя у подальшому онтогенезі.

References

1. Adams W. K. M. Influence of infection during pregnancy on fetal development / W. K. M. Adams, R. M. McAdams // *Reproduction*. – 2013. – № 1. – P. 151-62

2. Chamoux E. Identification of extracellular matrix components and their integrin receptors in the human fetal adrenal gland / E. Chamoux E¹, L. Bolduc [et al.] // *Clin. Endocrinol. Metab.* – 2001. – № 86. – P. 2090-8.
3. Charlier C. Infection and pregnancy: a threat for mother and child / C. Charlier, M. Lecuit // *Presse. Med.* – 2014. – № 43. – P. 662-4.
4. Chin T. L. Viral infections in pregnancy: advice for healthcare workers / T. L. Chin, A. P. MacGowan [et al.] // *Hosp. Infect.* – 2014. – № 87. – P. 11-24.
5. Viehweg B. Histochemical studies on female genital organs during fetal development. VI. Protein histochemistry of the uterine tubes // B. Viehweg, K. E. Ruckhäberle, C. Wolff // *Gegenbaurs. Morphol. Jahrb.* – 1972. – № 117. – P. 489-95.
6. Dabbs D. J. Diagnostic immunohistochemistry / D. J. Dabbs. - Churchill Livingstone, 2006. – 828 p.
7. Kluz T. Częstość występowania przyczyn maciczno-jajowodowych w niepłodności pierwotnej i wtórnej / T. Kluz. – Kraków, 1998. – 56 str.
8. Chamoux E. Fibronectin, laminin, and collagen IV as modulators of cell behavior during adrenal gland development in the human fetus / E. Chamoux, A. Narcy [et al.] // *Clin. Endocrinol. Metab.* – 2002. – № 87. – P. 1819-28.
9. Dresler S. Antenatal torsion of a normal ovary and fallopian tube / S. Dresler // *Am. J. Dis. Child.* – 1977. – № 131. – P. 236.
10. Chen X. Differential expression of vascular endothelial growth factor angiogenic factors in different endometrial compartments in women who have an elevated progesterone level before oocyte retrieval, during in vitro fertilization-embryo transfer treatment / X. Chen, X. Jin [et al.] // *Fertil. Steril.* – 2015. – № 1. – P. S0015-0282(15)00448-3.