

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені О.О. БОГОМОЛЬЦЯ**

ДАВИДЕНКО ІГОР СВЯТОСЛАВОВИЧ

УДК: 611-013.85:618.39-021.3

**ПАТОМОРФОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ФОРМУВАННЯ
СИНДРОМУ ПЛАЦЕНТАРНОЇ НЕДОСТАТНОСТІ
ПРИ ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНІЙ АНЕМІЇ ВАГІТНИХ**

14.03.02 – патологічна анатомія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора медичних наук

Київ – 2006

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Буковинському державному медичному університеті МОЗ України (м. Чернівці)

Науковий консультант

доктор медичних наук, професор,
Задорожна Тамара Данилівна,
Інститут педіатрії, акушерства і гінекології АМН України,
завідуюча лабораторії патоморфологічних досліджень

Офіційні опоненти:

доктор медичних наук, професор
Колесова Надія Арнольдівна,
завідуюча лабораторії метаболічного та структурного аналізу НДЛЦ Національного медичного університету імені О.О. Богомольця (м.Київ)

доктор медичних наук, професор
Ступіна Олександра Семенівна,
провідний науковий співробітник лабораторії морфології і цитології Інституту геронтології АМН України (м.Київ)

доктор медичних наук, професор
Даниленко Анатолій Іванович,
завідувач кафедри патологічної анатомії Одеського державного медичного університету МОЗ України

Провідна установа

Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л.Шупика МОЗ України (м.Київ)

Захист відбудеться 01.06.2006 р. о 14-30 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.003.06 при Національному медичному університеті імені О.О. Богомольця (03757, м. Київ-057, пр. Перемоги, 34).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Національного медичного університету імені О.О. Богомольця (03757, м. Київ-057, вул. Зоологічна, 1).

Автореферат розісланий 30.04. 2006 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради, професор

Грабовий О.М.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Стан репродуктивного здоров'я в Україні надалі ускладнюється, що нещодавно всебічно проаналізовано в Концепції державної програми "Репродуктивне здоров'я нації на 2006-2015 рр.". У названій Концепції серед основних проблемних питань репродуктивного здоров'я зазначені: високий рівень абортів, невиношування вагітності, ускладнень вагітності та пологів. Плацентарна недостатність (ПН) в своїх конкретних проявах, без сумніву, є одним із провідних об'єктів уваги для наукової та практичної розробки вказаних питань. Слід зазначити, що в руки сучасного патологоанатома для діагностики синдрому ПН потрапляє матеріал самих різних термінів гестації з діапазоном 5-42 тижні вагітності (А.П.Милованов, 1999, Б.И.Глуховец, Н.Г.Глуховец, 2002, К. Benirschke, Р. Kaufmann, 2000, F. T. Kraus, 2003). В зв'язку з цим вкрай необхідними для сьогодення стають розробки саме гестаційної діагностики синдрому ПН – виявлення критеріїв вказаної патології диференційовано для конкретних відрізків вагітності.

Актуальність теми. Залізодефіцитна анемія вагітних (ЗДАВ), маючи велике значення в розвитку низки гестаційних ускладнень (С.М.Ясніковська, 2001), за останні роки характеризується високою частотою, яка становить по регіонах України від 28,4% до 83,1% (А.Я.Сенчук, Т.Д.Задорожная, К.К.Константинов, 1999, О.В.Кравченко, С.Д., Приходько, 2000, С.М.Ясніковська, 2001, Т.Т.Овчар, А.П.Петулько, И.В.Овчар, 2005). Патоморфологічна діагностика синдрому ПН при ЗДАВ для періоду строкових пологів розроблена в достатній мірі (А.Я.Сенчук, Т.Д.Задорожная, К.К.Константинов, 1999, К. Benirschke, Р. Kaufmann, 2000). Тимчасом, діагностичні критерії синдрому ПН при ЗДАВ у терміни раніше за 37 тижнів не розроблені. Необхідно визнати, що для встановлення гестаційних критеріїв діагностики недостатньо простого описання гестаційних патоморфологічних змін у тканині плаценти. Безсумнівно, що для кожного варіанту морфологічних відхилень слід в'яснити механізм його формування, довести його зв'язок із ЗДАВ. Останнє становить непросте завдання, адже не тільки гіпоксія є несприятливим чинником впливу ЗДАВ на провізорні органи. У крові вагітної при ЗДАВ розвивається системна патологія, яка торкається не тільки самого залізодефіциту, характерної патології материнських еритроцитів та анемічного варіанту гемічної гіпоксії, але й глибоких змін у вільнорадикальних процесах, біохімічному складі крові, системі гемостазу тощо (С.А.Гусева, В.П.Вознюк, М.Д.Бальшин, 2001, С.М.Ясніковська, 2001, Г.И.Козинец та ін., 2002). Потрібно розглядати вплив ЗДАВ на формування синдрому ПН як результат комплексної тривалої дії багатьох чинників, тому з цієї позиції важливо застосовувати адекватні наукові підходи з використанням, зокрема, відповідних цьому завданню статистичних методів дослідження.

З точки зору системного аналізу для з'ясування механізмів синдрому ПН необхідно досліджувати не тільки плацентарну тканину, а також безпосередньо анатомічно зв'язані із нею

пуповину, плодові оболонки та матково-плацентарну ділянку (МПД), враховувати стан плода і матері (А.П.Милованов, 1999, К. Benirschke, P. Kaufmann, 2000, F. T. Kraus, 2003). Слід вказати на те, що морфологічні зміни в МПД при ЗДАВ залишаються поки що не вивченими, хоч такі дослідження потенційно є перспективними.

Досягнення сучасної науки дають нові можливості щодо встановлення клітинних та молекулярних механізмів формування різних видів патології у людини і тварин. Найбільш перспективним і розроблювальним на даний час напрямком є вивчення механізмів локальної регуляції кількості клітин. Останню потрібно розглядати з точки зору двох аспектів: процесів проліферації та процесів виживання диференційованих клітин. При ЗДАВ названі процеси в плаценті та МПД є маловивченими, причому в найбільшій мірі це стосується гестаційного аспекту синдрому ПН.

Зв'язок дисертаційної роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом планової науково-дослідної роботи Буковинського державного медичного університету "Репродуктивне здоров'я. Профілактика структурно-функціональних уражень фетоплацентарного комплексу при порушеному періоді гестації, прогнозування і корекція перинатальних наслідків адаптації новонароджених" (термін виконання: 2001-2005 рр.). Шифр теми: 20.00.0001.01, № держреєстрації 01.01.U005242. Дисертантом виконано та написано 10 розділів НДР: "Сучасні уявлення про взаємовідношення залізодефіцитної анемії вагітних та недостатності плаценти" (огляд літератури), "Органометричні, гістологічні, гістометричні, гістохімічні методи дослідження плаценти", "Постановка експерименту на лабораторних тваринах", "Клінічна характеристика хворих для морфологічних досліджень плаценти", "Органометричні параметри плаценти при поєднанні залізодефіцитної анемії вагітних та хронічної плацентарної недостатності", "Оцінка сили впливу залізодефіцитної анемії вагітних на структурні елементи ворсин плаценти за методом Снедекора (однофакторний дисперсійний аналіз)", "Мікроскопічна характеристика хоріального дерева залежно від періоду гестації та ступеня тяжкості анемії у вагітних", "Морфометричні параметри мікроциркуляції в термінальних ворсинах при гістологічних ознаках незрілості плаценти у 37-40 тижнів вагітності", "Морфологія еритроцитів венозної крові вагітної та інтервільозних просторів плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних, що поєднана з хронічною плацентарною недостатністю", "Комп'ютерно-денситометричні та спектральні параметри білкового компонента трофобласта, децидуоцитів, материнських і плодових еритроцитів плаценти при експериментальній залізодефіцитній анемії вагітних".

Мета роботи: встановити патоморфологічні критерії гестаційної діагностики синдрому плацентарної недостатності при залізодефіцитній анемії вагітних на підставі попереднього з'ясування клітинних та молекулярних механізмів формування структурної основи синдрому.

Задачі дослідження.

1. Визначити органолокалізаційні аспекти синдрому плацентарної недостатності при залізодефіцитній анемії вагітних.
2. Встановити провідні патоморфологічні прояви синдрому плацентарної недостатності при залізодефіцитній анемії вагітних у хоріальних ворсинах.
3. Удосконалити класифікацію хоріальних ворсин плаценти для найбільш адекватного виявлення порушень дозрівання хоріального дерева.
4. Виявити особливості порушення трансформацій хоріальних ворсин при залізодефіцитній анемії вагітних.
5. Встановити клітинні та молекулярні механізми порушень трансформацій хоріальних ворсин.
6. Вивчити молекулярні особливості ушкоджень трофобласта хоріальних ворсин при залізодефіцитній анемії вагітних.
7. Провести експериментальне моделювання залізодефіцитної анемії на лабораторних тваринах для з'ясування закономірностей ушкодження трофобласта.
8. Дослідити молекулярні причини змінених ангиогенезу та формування позасудинного компонента стромы хоріальних ворсин при залізодефіцитній анемії вагітних
9. Оцінити можливість впливу плаценти на материнські еритроцити безпосередньо в інтервільозних просторах плаценти.
10. Виявити клітинно-молекулярні механізми підсиленого утворення інтервільозного фібриноїду при залізодефіцитній анемії вагітних.
11. Дослідити можливість впливу залізодефіцитної анемії вагітних на структури матково-плацентарної ділянки.
12. Обґрунтувати гіпотезу про пристосувальний та компенсаторний характер органної перебудови плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних.
13. На підставі з'ясування механізмів формування синдрому плацентарної недостатності при залізодефіцитній анемії вагітних розробити гестаційні критерії його діагностики.

Об'єкт дослідження. Структурна складова синдрому плацентарної недостатності при залізодефіцитній анемії вагітних.

Предмет дослідження. Механізми гестаційного формування морфологічної основи синдрому плацентарної недостатності при залізодефіцитній анемії вагітних.

Методи дослідження. У роботі використовувались органометричні, загальногістологічні, гістохімічні, гістоферментні, імуногістохімічні, лектиноімуногістохімічні, люмінесцентні, морфометричні (цифрова комп'ютерна гістометрія, гістостереометрія, цитометрія, мікроденситометрія, мікроспектрометрія), гематологічні методи дослідження. За матеріалами медичної документації здійснювався клінічний аналіз перебігу вагітності.

Наукова новизна одержаних результатів.

Вперше встановлено, що при залізодефіцитній анемії вагітних клінічно важливі морфологічні прояви синдрому плацентарної недостатності, починаючись з 13-го тижня гестації, локалізуються не тільки в хоріальному дереві, але також у спіральних артеріях матково-плацентарної ділянки.

Для покращення діагностики порушень дозрівання хоріального дерева на основі аналізу з використанням математичного апарату теорії інформації удосконалена класифікація хоріальних ворсин на: а) мезенхімальні; б) ембріональні; в) стовбурові "ранні"; г) стовбурові "пізні"; д) проміжні незрілі; е) проміжні зрілі; є) термінальні; ж) термінальні "спеціалізовані" хоріальні ворсини. Принципово новим у класифікації є виділення серед стовбурових хоріальних ворсин двох їх варіантів: стовбурових "ранніх" та стовбурових "пізніх" ворсин.

На прикладі залізодефіцитної анемії вагітних розкриті механізми порушення дозрівання хоріального дерева (через залучення клітинних та молекулярних механізмів регуляції чисельності клітин хоріальних ворсин, а також через встановлення шляхів порушень трансформацій хоріальних ворсин).

Вперше виявлена можливість негативного впливу ушкодженої плаценти на стан материнських еритроцитів при залізодефіцитній анемії вагітних, що дозволило сформулювати поняття про своєрідне вадне коло при цій хворобі: ушкодження плаценти (внаслідок патології материнської крові) → поглиблення патології материнської крові → поглиблення ушкодження плаценти і т.д.

Висунута гіпотеза про універсальний пристосувальний характер органних перебудов плаценти при синдромі плацентарної недостатності, здійснено обґрунтування гіпотези з теоретичних позицій та через результати власних досліджень. Показано, що морфологічна сутність органної перебудови полягає в гальмуванні росту плаценти в товщину, але паралельному підсиленні росту плаценти по площі матково-плацентарної ділянки. Вказана перебудова є морфологічною основою спроб плаценти щодо оптимізації кровообігу в інтервільозних просторах при збереженні загального масиву плацентарних структур. Відсутність пристосувально-компенсаторної органної перебудови плаценти при анемії III ст. може бути одним із внутрішніх чинників прогресування патологічних змін у хоріальному дереві.

Практичне значення одержаних результатів. У результаті проведених досліджень, аналізу та узагальнення отриманих даних вирішена актуальна для практичної охорони здоров'я проблема патоморфологічної гестаційної діагностики синдрому плацентарної недостатності при залізодефіцитній анемії вагітних, а саме: встановлені його гестаційні патоморфологічні діагностичні критерії диференційовано для різних відрізків гестації: 13-16, 17-20, 21-24, 25-27, 28-32, 33-36, 37-40 тижнів та пролонгованої вагітності. Розроблено і впроваджено новий спосіб

виготовлення препаратів-відбитків плаценти, який можна використовувати як додатковий засіб діагностики ЗДАВ при патоморфологічному дослідженні плаценти (Деклараційний патент України на винахід). Розроблено і впроваджено новий спосіб діагностики в одному гістологічному зрізі плаценти фібрину, колагенових волокон та кальцифікатів. (Деклараційний патент України на винахід). Розроблено 7 одноосібних раціоналізаторських пропозицій з удосконаленням гістохімічних та імуногістохімічних методів діагностики структурної патології плаценти.

Результати досліджень впроваджено в практичну роботу Чернівецького обласного дитячого патологоанатомічного бюро (2001-2003 рр.), Чернівецького обласного патологоанатомічного бюро (2001-2005 рр.), державного підприємства "Науково-дослідний інститут медико-екологічних проблем" МОЗ України (2003 р.), лабораторії патоморфології Інституту педіатрії, акушерства і гінекології АМН України (2005 р.), Державного патологоанатомічного Центру України (2005 р.), патологоанатомічного відділення Луганської обласної клінічної лікарні (2005 р.), пологового будинку м. Кам'янець-Подільський Хмельницької області (2005 р.) та пологового відділення 9-ї міської лікарні м. Дніпродзержинська, Дніпропетровської області (2005 р.). Матеріали дисертації використовуються при викладанні патологічної анатомії студентам на кафедрах патологічної анатомії Одеського державного медичного університету, Івано-Франківського державного медичного університету та Буковинського державного медичного університету. Всього здійснено 34 впровадження.

Особистий внесок здобувача. Ідею, мету дисертаційної роботи висунуто та сформульовано самостійно. Розробку завдань дослідження здійснено за участі наукового консультанта доктора медичних наук, професора Т.Д.Задорожної. Набір матеріалу для морфологічних досліджень проведено разом з лікарем акушер-гінекологом вищої категорії С.О. Давиденко. Виконання органометричних, загальногістологічних, поляризаційних, гістохімічних, гістоферментних, лектиноімуногістохімічних, люмінесцентних, морфометричних (цифрова комп'ютерна гістометрія, гістостереометрія, цитометрія, мікроденситометрія, мікроспектрометрія), більшості імуногістохімічних досліджень здійснено самостійно. Імуногістохімічні дослідження антигену PCNA та плацентарного лактогену виконано за участі наукового консультанта доктора медичних наук, професора Т.Д. Задорожної. Імуногістохімічні дослідження CD-рецепторів у плацентарній тканині та матково-плацентарній ділянці виконано сумісно з кандидатом медичних наук, доцентом І.Ф. Курченком. Аналіз результатів гематологічних та біохімічних досліджень здійснено самостійно за матеріалами медичної документації. Статистична обробка цифрового матеріалу виконана одноосібно. Узагальнення отриманих результатів, обґрунтування висновків та практичних рекомендацій, написання всіх розділів дисертації, підготовка і подача до друку наукових публікацій, підготовка до виступів і

виступи на всіх наукових та науково-практичних конференціях здійснені автором дисертаційного дослідження самостійно.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертації доповідались та обговорювались на: Всеукраїнській науковій конференції з міжнародною участю "Мікроциркуляція та її вікові зміни" (Київ, 1999), 2-му з'їзді Міжнародної спілки асоціацій патологоанатомів (Москва, 1999), Всеукраїнській науково-практичній конференції "Актуальні питання перинатології" (Чернівці, 2001), Всеукраїнській науковій конференції "Актуальні питання мікроциркуляції та гомеостазу при патології внутрішніх органів" (Чернівці 2002), Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю "Сучасні методи наукових досліджень в морфології та патології" (Полтава, 2003), Міжнародному Конгресі "Розвиток в морфологічних, експериментальних та клінічних дослідженнях положень вчення В.М.Шевкуненка про індивідуальну мінливість тіла людини" (Полтава, 2003), 7-му Конгресі патологів України "Екологічна та інфекційна патологія: сучасні патологоанатомічні аспекти" (Івано-Франківськ, 2003), 4-му Національному Конгресі патофізіологів України з міжнародною участю "Фундаментальні аспекти сучасної медицини" (Чернівці, 2004), Всеукраїнській науково-практичній конференції "Актуальні проблеми морфологічної діагностики хвороб плода і дитини" (Чернівці, 2004), IX-му Міжнародному Конгресі з клінічної патології (Бангкок, 2004), Всеукраїнській науковій конференції "Актуальні питання клінічної анатомії та оперативної хірургії" (Чернівці, 2004), III-й міжнародній конференції "Динаміка наукових досліджень 2004", (Дніпропетровськ, 2004), 7-й Міжнародній конференції "Кореляційна оптика 2005" (Чернівці, 2005), підсумкових наукових конференціях викладачів Буковинського державного медичного університету (Чернівці, 1997-2005).

Публікації за темою дисертації. За результатами дослідження, викладеного в дисертаційній роботі, опубліковано 32 наукових праці, в тому числі: 20 статей у фахових виданнях, рекомендованих ВАК України (з них 14 журнальних статей є одноосібними), два опублікованих патенти України на винахід (один патент одноосібний), три статті в збірниках наукових праць (дві статті в збірниках – одноосібні), сім публікацій містяться в матеріалах або тезах доповідей Всеукраїнських і міжнародних наукових та науково-практичних конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Матеріали дисертації викладено українською мовою на 351 сторінках принтерного тексту (обсяг тексту основної частини - 278 сторінок). Робота складається із вступу, огляду літератури, розділів "Матеріал і методи", шести розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаної літератури, який містить 658 джерел вітчизняних та зарубіжних авторів. Робота ілюстрована 61 таблицею, 79 рисунками (з 131 фотографією, 15 графіками, 3 схемами).

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріал та методи дослідження. Залізодефіцитна анемія вагітних за своїм змістом є хронічною патологією, тому для валідності висновків в цьому дослідженні взяті до уваги тільки ті випадки, коли дана хвороба мала свій повний клінічний розвиток і тривала не менше чотирьох тижнів з діапазоном тривалості повних 4-34 тижні. В усіх випадках залізодефіцит був зареєстрований за вмістом сироваткового заліза ще за два-чотири тижні до розвитку характерних гематологічних змін в крові вагітної.

Хоч ЗДАВ найбільш типово розвивається з другої половини гестації, в невеликій частині спостережень ця патологія реєструвалася вже з 9-19 тижня. Аналіз таких випадків вважали цінним з точки зору виявлення загальних закономірностей формування синдрому хронічної плацентарної недостатності. Особливостями матеріалу було те, що ЗДАВ III-го ст. тяжкості в період до 25 тижнів вагітності не зафіксовано.

Кількісний розподіл досліджених випадків залізодефіцитної анемії по термінам гестації представлений у таблиці.

Таблиця

Кількісний розподіл випадків залізодефіцитної анемії за терміном гестації

Період гестації (тижні)	Клінічна характеристика періоду гестації	Всього	Анемія I ст.	Анемія II ст.	Анемія III ст.	Термін виникнення залізодефіциту та залізодефіцитної анемії
5-6	штучні аборти	11	6	5	0	залізодефіцитна анемія розвинулася до вагітності
7-8	штучні аборти	14	7	7	0	залізодефіцитна анемія розвинулася до вагітності
9-10	штучні аборти	12	6	6	0	залізодефіцитна анемія розвинулася до вагітності
11-12	штучні аборти	9	5	4	0	залізодефіцитна анемія розвинулася до вагітності
13-16	пізні мимовільні викидні	13	7	6	0	залізодефіцит з 6-9 тижня ЗДАВ з 8-10 тижня
17-20	пізні мимовільні викидні	12	6	6	0	залізодефіцит з 6-10 тижня ЗДАВ з 8-10 тижня
21-24	пізні мимовільні викидні	15	8	7	0	залізодефіцит з 6-11 тижня ЗДАВ з 8-13 тижня
25-27	пізні мимовільні викидні	32	11	11	10	залізодефіцит з 6-11 тижня ЗДАВ з 8-14 тижня
28-32	передчасні пологи	36	13	12	11	залізодефіцит з 6-12 тижня ЗДАВ з 9-16 тижня

Період гестації (тижні)	Клінічна характеристика періоду гестації	Всього	Анемія I ст.	Анемія II ст.	Анемія III ст.	Термін виникнення залізодефіциту та залізодефіцитної анемії
33-36	передчасні пологи	37	14	12	11	залізодефіцит з 6-12 тижня ЗДАВ з 9-18 тижня
37-40	строкові пологи	61	22	21	18	залізодефіцит з 6-12 тижня ЗДАВ з 9-19 тижня
41-42	продовжена вагітність	16	0	8	8	залізодефіцит з 6-12 тижня ЗДАВ з 9-19 тижня
Всього		268	106	105	57	

Визначення відрізків термінів гестації здійснено на підставі поєднання двох принципів: морфологічної стадійності розвитку хоріального дерева та клінічної належності матеріалу (ранні та пізні аборти, передчасні та строкові пологи, продовжена вагітність). Кожен відрізок гестації представлений рівномірно з представництвом кожного тижня гестації без жодного розриву.

З метою порівняльного аналізу сформовані пропорційні групи гестаційного контролю для кожного досліджуваного відрізка вагітності.

Згідно до комплексу клінічних даних виставлявся або відхилявся діагноз "Синдром хронічної плацентарної недостатності". Цей діагноз уточнювався при патоморфологічному дослідженні посліду з градацією за тяжкістю (компенсованістю) на компенсовану, субкомпенсовану та декомпенсовану форму синдрому.

Для доказу деяких закономірностей, що були виявлені на клінічному матеріалі був поставлений експеримент із моделюванням залізодефіцитної анемії у вагітних щурів. В експерименті використано 28 самок білих безпородних статевозрілих щурів вагою 220-240 грамів на початку експерименту.

Морфологічні дослідження посліду та МПД виконувалися на різних рівнях організації живої матерії з дотриманням принципів якісної та кількісної репрезентативності при ієрархічному переході від рівня до рівня.

Вивчення органного рівня організації посліду передбачало визначення основних органометричних параметрів плаценти, пуповини та вільних плодових оболонок, оцінки варіанта прикріплення пуповини до плаценти, типу розгалуження судин хоріальної пластинки та оцінки їх діаметру, описової характеристики материнської поверхні народженої плаценти з оцінкою особливостей будови котиледонів, враховували також клінічні дані з історій пологів про кількість навколоплідних вод. Площу найбільшого перетину плаценти вимірювали в см² за допомогою прозорої сітки з рівновіддаленими крапками. Об'єм органу визначали у см³ за кількістю витісненої рідини з мірного циліндру. Вимірювали масу плаценти. Периметр найбільшого перетину заміряли у см за допомогою курвіметра. Для оцінки товщини плаценти користувались спеціальним

консольним пристроєм, що дозволяє вимірювати з точністю до 0,01 см. Параметри товщини знімали у 14 позиціях (з рівномірним представництвом центральних, парацентральных та периферичних відділів органу). Вираховували середню арифметичну товщини плаценти. Визначали також коефіцієнт варіації товщини (в %) в межах кожного органу. Для оцінки форми найбільшого перетину плаценти обраховували коефіцієнт "фактор форми" плоскої фігури, який визначали за формулою $FF = \sqrt{S} / P$, де S – площа найбільшого перетину плаценти, а P – периметр плаценти, а також показник "ексцентриситет еліпса". Для оцінки форми плаценти як 3-х мірної структури застосували коефіцієнт "площинно-товщинний індекс" (ПТИ), який обраховували згідно до формули: $ПТИ = \sqrt{S} / \bar{H}$, де S – площа найбільшого перетину плаценти, а \bar{H} - середня арифметична товщини. У пуповини вимірювали її довжину та середній діаметр, оцінювали видимі неозброєним оком пошкодження. У вільних плодових оболонках вимірювали середню товщину, оцінювали їх колір, прозорість, блискучість, видимі неозброєним оком пошкодження. При оцінці макроскопічних параметрів посліду враховували динамічне ультразвукове обстеження жінки протягом вагітності. Для деяких макроскопічних досліджень використовувалася лупа з триразовим збільшенням. На паралельних пластинчастих розрізах тканини плаценти стереометричним методом визначали питомий об'єм явно неробочих зон (інфарктів, кіст, великих кальцифікатів та відкладань фібриноїду).

Підготовку матеріалу до мікроскопічних досліджень здійснювали диференційовано – залежно від вимог конкретної методики. Частину матеріалу фіксували 48 годин у 10%-му розчині нейтрального забуференого формаліну, після чого проводили зневоднювання у висхідній батареї спиртів та парафінову заливку при температурі 64°C. На санному мікротомі робили серійні гістологічні зрізи товщиною 5 мкм. Після депарафінізації зрізів виконували забарвлення гематоксиліном-еозином (з оглядовою метою), хромотропом-водним блакитним за методикою Н.З. Слинченко (для ідентифікації фібрину та волокнистого компонента стромы), хромотропом-світловим зеленим (для диференціювання колагенових волокон, фібрину та відкладань солей кальцію при інфрачервоній мікроскопії), пікрофуксином за Van Gieson (для забарвлення колагенових зрілих волокон) з дофарбовкою клітинних ядер гематоксиліном Вейгерта, азур-П-еозином з диференціюванням в розчині оцтової кислоти (для візуалізації тканинних базофілів та великих гранулярних лімфоцитів), імпрегнацію сріблом за Гоморі (для виявлення аргірофільних волокон), гістохімічне визначення загального білка за Бонхегом, кислих та основних білків за Мікель-Кальво, вільних аміногруп білків за Ясума та Ітікава, фібрину за Шуєніновим, ставили PAS-реакцію з контролем амілазою (для верифікації PAS-позитивних структур), заліза за Перлсом.

Іншу частину матеріалу для збереження цілісності певних антигенів та реактивних груп фіксували протягом 22 годин у 10%-му розчині нейтрального забуференого формаліну, після чого

проводили прискорене зневоднювання у висхідній батареї спиртів та парафінову заливку при температурі 56°C. Такі парафінові зрізи фарбували на сульфгідрильні групи білків за Ліллі, для оцінки проліферативної активності клітин проводили сріблення на ядерцевий організатор (AgNOR), ставили низку імуногістохімічних реакцій з моноклональними антитілами виробників DakoCytomation (Denmark-USA) та R&D Systems, Inc. (USA): на проапоптотичні протеїни (Bax, Bcl-XS, p53); протиапоптотичні протеїни (Bcl-2, Mcl-1, Bcl-XL); проліферативний ядерний нуклеарний антиген (PCNA); васкулярний ендотеліальний фактор росту (VEGF); гормони плаценти – плацентарний лактоген, хоріонічний гонадотропін; цитокератин – для ідентифікації епітеліальних клітин; плацентарну лужну фосфатазу; виконували імуногістохімічну методику на визначення міжнуклеосомальних розривів ДНК – TUNEL із застосуванням тест-системи TACS XL™ (R&D Systems, Inc., USA). В зазначених імуногістохімічних реакціях використовувалася стрептавідинбіотинова система візуалізації антитіл LSAB2 (пероксидазна мітка + діамінобензидин) виробника DakoCytomation (Denmark-USA). Окрім зазначених методик на таких парафінових зрізах для ідентифікації клітин Гофбауера (за олігосахаридами, які містять б1,2-L-фукозу, що в інших стромальних клітинах ХВ не виявляються) проводили визначення рецепторів до лектинів насіння стрічкака (*Ulex europaeus*) з імуногістохімічною верифікацією вказаних лектинів первинними антитілами до них (DakoCytomation, Denmark-USA).

Кріостатні зрізи нефіксованої тканини за допомогою відповідних моноклональних антитіл та авідинбіотинової системи візуалізації ABC (DakoCytomation, Denmark-USA) використовували для імуногістохімічного вивчення експресії проапоптотичного антигену CD95, антигенів-маркерів різних типів лімфоцитів CD1a, CD3, CD4, CD8б, CD22, HLA-Dr, інтегрину бХв2 (за рецептором CD11с), фермента 11в-гідроксистероїд дегідрогенази, для гістоферментного визначення методом азосполучення активності лужної фосфатази, термостабільної лужної фосфатази, кислої фосфатази, не специфічної естерази, визначення сукцинатдегідрогенази тетразолієвим методом за Z. Lojda, визначення лактатдегідрогенази тетразолієвим методом за Z. Lojda, виявлення нейтральних ліпідів суданом-III, фосфоліпідів із залізним гематоксином за Бекером, хемілюмінесцентне визначення нітропероксидів з люмінолом за допомогою люмінесцентного мікроскопа ЛЮМАМ-Р8 (ЛОМО, Россия).

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 при використанні різних об'єктивів мікроскопа залежно від цілей аналізу. Потім цифрові копії зображення аналізували за допомогою ліцензійної копії комп'ютерної програми "ВидеоТест – Размер 5.0" (ООО Видеотест, Россия). Зокрема, підраховували кількість певних об'єктів, отримували їх основні геометричні характеристики (лінійні розміри, питому площу та об'єм,

периметр, фактор форми), денситометричні параметри (оптична щільність, середня яскравість, відхилення яскравості, насиченість), спектральні характеристики (розкладення кольору об'єкта на три складові – червону, зелену, синю, з кількісною оцінкою кожної ділянки спектра). Конкретне застосування вказаних показників описано у відповідних розділах дисертації.

Проведені гематологічні дослідження крові жінок. Було досліджено мазки венозної крові, взятої за 2-5 годин до пологів, та препарати-відбитки плаценти не пізніше 20 хвилин після отримання посліду, які виконані способом, що дозволяє виділити виключно материнські формені елементи крові. Мазки крові та препарати-відбитки плаценти після висушування без фіксації фарбували водним еозином, який приготовлено на ізотонічному розчині та гематоксилином Грота. Інші мазки крові та препарати-відбитки плаценти фарбували бромфеноловим синім за Мікель-Кальво для оцінки співвідношення між карбонільними та аміногрупами білків в еритроцитах.

Статистичну обробку цифрових даних здійснювали залежно від конкретного завдання фрагмента дослідження. Планування необхідної кількості спостережень у кожній групі дослідження визначали на підставі обрахунків достатньої кількості для конкретного застосованого статистичного метода при рівні чутливості – 0,80 та рівня значущості $p=0,05$. Для параметричних даних застосовували попередню перевірку на нормальність розподілу за допомогою критерію Вілкі-Хана-Шапіро. Якщо згідно даного критерію гіпотеза про нормальність розподілу не відхилялася (при $p=0,05$), то використовували параметричні методи статистичного аналізу: непарний та парний двосторонні критерії Стюдента (для рівних та нерівних дисперсій – перевіряли згідно критеріїв Левена та Фішера), параметричний однофакторний дисперсійний аналіз, для множинних порівнянь – критерій Ньюмена-Кейлса, для аналізу зв'язків застосовували бінарний лінійний кореляційний аналіз за Пірсоном, бінарний лінійний регресійний аналіз, множинний лінійний кореляційний аналіз, парціальний лінійний кореляційний аналіз, канонічний кореляційний аналіз, за необхідності проводили інтервальні оцінки. Непараметричні методи статистики використовували в разі відхилення гіпотези про нормальність у вибірках (як основний засіб), а також при малочисельних вибірках (як паралельний засіб): критерій Манні-Вітні, парний критерій Вілкоксона, непараметричний дисперсійний аналіз за Краскелом-Уоллісом. При наявності доказів про нелінійний зв'язок виконували нелінійний бінарний та множинний кореляційний аналіз. Для встановлення розбіжностей між відсотковим відображенням частоти певної ознаки серед двох статистичних вибірок використовували спеціальний статистичний метод – кутове фі-перетворення Фішера. Більшість статистичних розрахунків здійснювали за допомогою ліцензійної копії комп'ютерної програми *Primer of Biostatistics, Version 4.03 (by S.A.Glanz, 1998)*. Ті статистичні процедури, які не передбачені у вказаній комп'ютерній програмі, були проведені у середовищі ліцензійної копії комп'ютерної програми Excel (версія XP, Microsoft® Corp.) шляхом програмування відповідних алгоритмів розрахунків.

Результати власних досліджень та їх обговорення. Проведені морфологічні дослідження плаценти на різних рівнях її структурної організації дозволили підтвердити характерні для ЗДАВ зміни в структурних елементах цього органу, які незалежно описані авторами наукових публікацій. Зокрема, показано, що при ЗДАВ має місце порушення дозрівання ХВ, перебудова судинного русла ХВ з гіперплазією судин та змінами їх інтравільозної транслокації, склеротичні зміни в стромі ХВ, посилене відкладання інтервільозного фібриноїду, пригнічення білоксинтезуючої та гормональної функції плаценти. Всі вказані зміни є варіантами морфологічних проявів синдрому плацентарної недостатності.

Слід, однак, вказати на те, що дані літератури щодо ЗДАВ не в повній мірі є зіставлюваними як між собою так і з результатами даного дослідження з огляду на низку обставин. Не у всіх публікаціях чітко вказуються клінічні та соціальні особливості формування груп дослідження, або не враховується аспект різних анатомічних форм плаценти (а це є принципово важливим як для самої валідності висновків по суті так і для реалізації чутливості статистичних методів виявлення закономірностей). Не у всіх опублікованих роботах вказана тривалість ЗДАВ або її ступінь тяжкості. Навіть якщо й враховувалися ступені тяжкості хвороби, то в таких дослідженнях не застосовувалися адекватні для цієї ситуації статистичні методи обробки даних (дисперсійний аналіз та процедуру множинних порівнянь), адже виділення ступенів тяжкості хвороби передбачає аналіз кількох груп дослідження, які зв'язані одними умовами. Головною відмінністю даного дослідження від попередніх є не тільки оцінка результату впливу ЗДАВ на плаценту, яка народжена при строкових пологах, але й здійснення спроб виявлення шляхів формування структурних змін у плаценті. Одним із ключових засобів у таких спробах був гестаційний аналіз: дослідження змін у плаценті в різні терміни вагітності з узагальненням отриманої інформації по кожному відрізьку гестації та екстраполяцією результатів аналізу на загальну динаміку змін.

Завдяки гестаційному аналізу та низці раніше не застосованих підходів щодо ЗДАВ (формування груп дослідження з комплексним урахуванням різноманітних аспектів – анатомічних особливостей плацент, багатьох клінічних та соціальних посилань, використання оригінальних органометричних показників стану плаценти, залучення нових підходів щодо класифікації типів ХВ та шляхів їх дозрівання, дослідження особливостей будови МПД при ЗДАВ, реалізації сучасних можливостей медичної молекулярної морфології, а також адекватному застосуванню статистичних методів множинного аналізу) були уточнені деякі варіанти патологічних змін у плаценті та виявлені нові раніше не відомі факти.

Гестаційний аналіз слід розглядати не тільки як засіб виявлення механізмів формування синдрому плацентарної недостатності, що поки що є недостатньо розробленим напрямком досліджень, але й як інструмент вирішення актуальної науково-практичної проблеми діагностики

вказаної патології на матеріалі, який все частіше потрапляє до рук сучасного патолога: спостережень штучного або мимовільного переривання вагітності.

Як це вище зазначалося, ЗДАВ найбільш типово розпочинається з третього триместру вагітності, але частина спостережень відноситься до другого і навіть першого триместрів гестації. Аналіз саме цих випадків є найбільш цінним для в'яснення аспектів формування синдрому плацентарної недостатності при акушерській чи екстрагенітальній патології матері.

Оскільки дане дослідження присвячене не просто залізодефіцитній анемії, а ЗДАВ, яка за своїм змістом є хронічною гестаційною патологією, то вивчені спостереження тривалістю не менше чотирьох тижнів. Таким чином, найбільш раннім гестаційним матеріалом з точки зору ЗДАВ були пізні аборти за медичними показаннями, починаючи з відрізка гестації 13-16 тижнів. Матеріал ранніх абортів у 5-12 тижнів гестації (спостереження залізодефіцитної анемії, яка розвинулася до вагітності) використовувався лише для перевірки деяких припущень, які були висунуті в процесі аналізу основного матеріалу, що був отриманий у 13-40 тижнів гестації.

Найпершими морфологічними змінами, які реєструвалися вже з 13-16 тижнів вагітності, були: дефіцит трофобластичних та вільозних відростків ХВ та зменшення товщини плацентарного бар'єра.

Пояснення першого з названих фактів знайшли в зниженні проліферативної активності цитотрофобласта (ЦТ) ХВ. Зниження проліферативної активності ЦТ співпадає з інтенсифікацією при ЗДАВ деяких молекулярних подій у трофобласті. Зокрема, встановлено посилення процесів вільнорадикального окиснення, на що вказували зміни у показниках, що відображають вміст нітропероксидів, окиснювальну модифікацію білків і пов'язаний з ними підсилений протеоліз та окиснення сульфгідрильних груп білків у трофобласті. Одночасно з цим відбувалася активізація деяких молекулярних механізмів клітинної смерті. Так, мало місце підсилення експресії протеїну p53 в ядрах трофобласта, а також встановлені факти збільшення вмісту протеїну Вах та його підсиленої транслокації в органели цитоплазми трофобласта. Щоправда, характерних для апоптозу змін у ядрах трофобласта у 13-16 тижнів вагітності не виявлено, включно відсутність доказів міжнуклеосомальних розривів ДНК, що перевірялося за допомогою імуногістохімічної методики, заснованої на принципі TUNEL. Відсутність апоптотичних змін, напевно, пов'язана із відносною ефективністю протиоксидантних систем, до числа яких слід зарахувати цитоплазматичний протеїн з протиапоптотичною функцією Bcl-2, а також сульфгідрильні групи різних сполук у цитоплазмі трофобласта, які "взяли на себе перший окиснювальний удар".

Товщина плацентарного бар'єра при ЗДАВ у термін 13-16 тижнів була зниженою, не зважаючи на потовщення трофобластичного покриву ХВ, який є складовим компонентом плацентарного бар'єра. Таким чином, потоншення названого бар'єра при ЗДАВ викликано зміненим формуванням судинного русла в ХВ з більшим наближенням плодових судин ХВ до

трофобласта. Механізми такої перебудови до кінця не зрозумілі, принаймні особливостей у експресії такого фактора як VEGF або гормонів (хоріонічний гонадотропін та плацентарний лактоген) у термін 13-16 тижнів гестації при ЗДАВ ще не помічено. Слід відзначити, що товщина плацентарного бар'єра залишалася при ЗДАВ більшою ніж у контролі впритул до 33 тижня гестації і з того часу зрівнялася з контрольними показниками.

У проміжок гестації 17-20 тижнів при збереженні всіх змін (включно ситуації щодо вільнорадикальних процесів), характерних для 13-16 тижнів, з'являються нові суттєві з точки зору синдрому ПН події. Зокрема, при ЗДАВ стає більшою ніж у контролі абсолютна площа поверхні капілярів та питомий об'єм капілярів ХВ. Знову, як і в термін 13-16 тижнів, молекулярних пояснень цього при використаних методах дослідження не виявлено. У проміжок гестації 17-20 тижнів вперше відмічено зростання числа TUNEL-позитивних ядер синцитіотрофобласта (СТ), а також докази більшої конденсації хроматину ядер СТ з тенденцією до маргінації в них хроматину. Слід думати, що описана гестаційна динаміка змін у ХВ у двомісячний проміжок з 13-го по 20-й тижні вагітності, вказує на два принципові висновки.

Перший висновок. На ХВ при ЗДАВ діють в першу чергу фактори зі сторони інтервільозних просторів (кров матері), адже в найбільшій мірі страждає саме трофобластичний покрив ХВ, який безпосередньо контактує з чинниками материнської крові. Зміни зі сторони кровоносного русла ХВ скоріше є проявом дії деяких м'яких регуляторних факторів.

Другий висновок. Цілий місяць (з 13 по 16 тиждень), не зважаючи на активізацію вільнорадикальних процесів та проапоптотичних молекулярних механізмів у трофобласті ХВ, не розвивалося морфологічних апоптозоподібних змін у ядрах цих клітин, вони з'явилися лише з 17-20 тижня вагітності. Можна припустити, що необхідно не менше кількох тижнів, щоби відбулася декомпенсація протирадикальних механізмів у трофобласті, перше ніж це призведе до реалізації каскадних апоптотичних процесів та відповідних морфологічних змін у ядрах епітелію ХВ.

Ще одним із морфологічних проявів впливу ЗДАВ на хоріальне дерево у термін гестації 17-20 тижнів було таке співвідношення між різними типами ХВ, яке дозволило припустити принципову можливість переходу (прямої трансформації на місці) проміжних незрілих у проміжні зрілі ХВ. Хоча така трансформація не вкладається в гіпотезу К. Benirschke та Р. Kaufmann про диференціювання ХВ, згідно якої проміжні зрілі ХВ утворюються з мезенхімальних (ембріональних за А.П. Миловановим) ХВ, а не з проміжних незрілих ХВ, все ж у даному дослідженні були отримані певні докази протилежного характеру. Аналіз можливості прямої трансформації проміжних незрілих у проміжні зрілі ХВ, який проведений у розділах 5-6, дозволив отримати аргументи на користь вказаної трансформації – характерні співвідношення типів ХВ протягом різних періодів гестації, локалізаційні докази, ентропійний аналіз ХВ, існування перехідних морфологічних форм від проміжних незрілих у проміжні зрілі ХВ. Тимчасом

аргументів, які б доводили протилежне, не встановлено. Таким чином, слід вважати, що в плаценті протягом гестації як одна із форм диференціювання ХВ (окрім тих форм, які існують згідно гіпотези К. Benirschke та Р. Kaufmann) відбувається пряма трансформація проміжних незрілих у проміжні зрілі ХВ, причому при ЗДАВ така трансформація порушується в плані її гальмування. Це означає, що вже з періоду гестації 17-20 тижнів, за умови, якщо ЗДАВ триває не менше 4 тижнів, у плаценті розвиваються перші порушення дозрівання ХВ.

У проміжок вагітності 21-24 тижні при ЗДАВ відбуваються принципово нові події стосовно проліферативної активності трофобласта, хоч інші вищевказані тенденції для попередніх термінів гестації зберігаються. Зміни проліферативних реакцій трофобласта в зазначений термін гестації полягали в реверсії проліферативної активності – після її пригнічення в попередні терміни вагітності з цього часу і до кінця гестації ЗДАВ характеризується підсиленням проліферації трофобласта. Саме підсиленими проліферативними реакціями можна пояснити і збільшення відсотка трофобластичних та вільозних відростків. Окрім порушень трансформації проміжних незрілих у проміжні зрілі ХВ проявляється ще і порушення дозрівання стовбурових "ранніх" у стовбурові "пізні" ХВ. Власне в основі обох останніх вказаних порушень дозрівання ХВ насправді лежить одне й те ж явище: персистенція клітин Гофбауера та стромальних каналів. Тобто власне останнє слід вважати головним механізмом порушення дозрівання ХВ у зазначені терміни гестації, причому і в подальші терміни вагітності цей механізм порушеного дозрівання ХВ зберігається, хоч і додаються нові варіанти порушеного дозрівання хоріального дерева.

Окрім всього описаного, що характеризує проміжок гестації 21-24 тижні, слід зазначити виявлене вперше лише з цього терміна вагітності зниження при ЗДАВ концентрації гормону – хоріонічного гонадотропіну в трофобласті ХВ. Можна припустити, що вказане зниження пов'язано із вільнорадикальними процесами безпосередньо в трофобласті ХВ. В усякому разі коефіцієнт кореляції Спірмена становив: між концентрацією хоріонічного гонадотропіну й концентрацією нітропероксидів (за відповідними показниками) $r = -0,775$ ($p < 0,001$), а між концентрацією хоріонічного гонадотропіну й інтенсивністю процесів ОМБ (за відповідними показниками) $r = -0,874$ ($p < 0,001$). Тобто, згідно до наведених кореляційних досліджень, чим більш виражені вільнорадикальні процеси в трофобласті – тим менша концентрація хоріонічного гонадотропіну цієї ж локалізації. Можливо, саме у змінах хоріонічного гонадотропіну в трофобласті ХВ криється пояснення у перебудові кровоносного русла ХВ, адже відсутність змін у концентрації цього гормону при ЗДАВ у попередні терміни гестації може бути пов'язана лише із недостатнім порогом чутливості застосованої імуногістохімічної методики визначення хоріонічного гонадотропіну. Тобто зміни стосовно хоріонічного гонадотропіну до 21-го тижня вагітності хоч і не виявлені, але насправді, можливо, мали місце.

Наступний термін гестації (25-27 тижнів) є особливо знаковим, адже вперше реакція плаценти на ЗДАВ очевидно проявляє себе на органному рівні, щоправда стосується це тільки помірної патології – ЗДАВ I ст. та II ст. Сутність органної реакції полягає в зменшенні середньої товщини плаценти, причому при цьому відбувається "вирівнювання" за товщиною всіх котиледонів органа, що підтверджує генералізований характер реакції плаценти. Зменшення товщини плаценти при ЗДАВ I-II ст. насправді є гальмуванням процесу росту плаценти в товщину, хоч темпи росту плаценти по площі матки не зменшуються, а навіть у термін вагітності 25-27 тижнів намічається тенденція до їх зростання, на що вказували величини площі найбільшого перетину плаценти. При ЗДАВ III ст. описана органна перебудова плаценти не виявляється. Обговорення загальнопатологічної сутності органної перебудови плаценти здійснюється далі, коли буде аналізуватися наступний проміжок гестації.

У 25-27 тижнів вагітності при ЗДАВ виявлено ще один вид порушення дозрівання ХВ, який проявляє себе в першу чергу дефіцитом термінальних ХВ. Здавалось би, що вказаний дефіцит може бути пояснений гальмуванням процесів дозрівання проміжних зрілих ХВ, які є джерелом термінальних ХВ, але при подальшому аналізі буде показано, що дефіцит останніх розвивається зовсім за іншим механізмом, який не стосується переходу проміжних незрілих у проміжні зрілі ХВ.

Ще однією значною подією для терміна гестації 25-27 тижнів було проявлення не встановлених у більш ранні терміни гестації молекулярних механізмів змін ангиогенезу ХВ при ЗДАВ. Зокрема, у клітинах Гофбауера (КГ) та СТ при ЗДАВ I-II ст. встановлено збільшення продукування васкулярного ендотеліального фактору росту (VEGF), функціями якого є не тільки стимуляція проліферації ендотеліоцитів, але і включення механізмів виживання цих клітин при активації проапоптотичних факторів, таких як протеїни Вах або Вак. Слід зазначити, що при ЗДАВ III ст. продукування VEGF клітинами Гофбауера та СТ зменшувалося. Паралельно в цих же плацентах мало місце різке зниження кількості проліферуючих ендотеліоцитів, причому останніх окрім проявів інтенсифікації вільнорадикальних процесів відбувалося очевидне активування Вах-залежних механізмів апоптозу. Напевно, при ЗДАВ III ст. саме в зв'язку із вказаними молекулярними подіями пов'язано порушення реакції судин ХВ на анемію, що виразилося в решті в потовщенні плацентарного бар'єра. Останнє є морфологічною основою погіршення дифузійних процесів у хоріальному дереві, яке ще додатково ускладнилося з причини розвитку склеротичних процесів у ХВ при ЗДАВ III ст.

Активізація Вах-залежних механізмів апоптозу в трофобласті ХВ, яка була виявлена для більш ранніх термінів гестації і залишалася всю вагітність з 26-го тижня проявила себе передчасною появою синцитіальних вузликів у ХВ (у контролі вони з'являлися лише з 31 тижня гестації).

Починаючи з 28-го тижня гестації, матеріал відносився до передчасних пологів, причому як при ЗДАВ так і без неї, тому важливо було спочатку встановити причину мимовільного переривання вагітності з 28-го по 36 тижні. Причинами таких переривань вагітності в принципі можуть бути різні фактори, наприклад, молекулярні механізми при запальних та імунних реакціях, які реалізують себе головним чином у МПД. Враховуючи вказане, в групі дослідження свідомо не включали спостереження із запаленням чи варіантами імунних конфліктів. Для остаточного зняття питання про імунний механізм активації молекулярних процесів, що можуть призвести до передчасних пологів, було проведено дослідження експресії на СТ антигену HLA-D_r, яка при фізіологічній вагітності має бути відсутньою, але при імунних атаках на СТ як правило має місце, наприклад, як це буває при вірусному інфікуванні посліду. Однак, щось же викликало переривання вагітності у досліджених спостереженнях. На сьогодні одним із найбільш обґрунтованих молекулярних механізмів природної стимуляції пологів є зростання кількості та активності в плаценті ферменту 11 β -гідроксистероїд дегідрогенази з подальшим запуском відомого каскаду подій, які в решті завершуються як підсиленою скоротливою діяльністю матки так і розкриттям шийки матки. Імуногістохімічним методом було встановлено, що при передчасних пологах як при ЗДАВ так і без неї експресія 11 β -гідроксистероїд дегідрогенази була характерною для строкових пологів. Таким чином, передчасні пологи у даному дослідженні, скоріше за все, пов'язані саме з підсиленою продукцією плацентою 11 β -гідроксистероїд дегідрогенази, причому вироблення цього білка напевно ніяк не пов'язано зі ЗДАВ. Наведені міркування обґрунтовують валідність матеріалу передчасних пологів для аналізу впливу ЗДАВ на плаценту, хоч, звичайно, найкращим матеріалом могли би бути трансвагінальні біопсії плаценти. Виконувати їх вважали небезпечним через порівняно високу частоту різноманітних ускладнень, вірогідність яких є більш високою за умов ЗДАВ.

У проміжок гестації 28-36 тижнів як і в попередній відрізок вагітності при ЗДАВ I-II ст. зменшувалася середня товщина плаценти. Паралельно суттєво збільшувалася площа найбільшого перетину плаценти. Гестаційна послідовність морфологічних подій у плаценті при ЗДАВ I-II ст. дозволяє розглянути гіпотезу про те, що описані органі перебудови носять пристосувально-компенсаторний характер. Обґрунтування гіпотези полягає у наступному. У певний період вагітності в клітинах плаценти з'являється метаболічний дисбаланс, який має різні прояви. Гестаційне потовщення ж плаценти, як це добре відомо, спричиняє уповільнення току материнської крові по інтервільозним просторам плаценти, що в цілому за інших рівних умов погіршує обмін речовин між кров'ю матері та кров'ю плоду. Оскільки в процесі розвитку першочерговим є збереження оптимальних умов для функціонування клітин, можна припустити, що при хронічній патології, якою є ЗДАВ, плацента, припиняючи рости у товщину, утворює більш економну структуру з точки зору енерговитрат клітин та таким чином пристосовується до

тривалого впливу негативного чинника. Збільшення площі найбільшого перетину плаценти, очевидно, є механізмом компенсації, адже при потоншенні плаценти необхідний для забезпечення функції цього органа масив його клітин (об'єм органу) можна забезпечити тільки шляхом росту плаценти по площі матки. При тяжкій патології (ЗДАВ III ст.) вказана перебудова не розвивається (порушуються клітинні та молекулярні механізми її реалізації), що також підтверджує компенсаторно-приспосувальний її характер. Знайдено щонайменше три факти, які підтверджують інтенсифікацію процесів росту плаценти по площі матки. Перший факт. Відбувається активізація клітинних проліферативних процесів на периферії плаценти, що видно завдяки використанню маркерів проліферації – експресії протеїну PCNA та визначення ядерцевих організаторів AgNOR. Другий факт. Збільшення числа незрілих ХВ у периферичних відділах плаценти, та збільшення щільності їх розташування у цій локалізації в порівнянні з нормою. Третій факт. Збільшена концентрація кровоносних судин у МПД у проекції периферичних відділів плаценти, що вочевидь потрібно для забезпечення процесів посиленого периферичного росту плаценти.

Саме активізація процесів росту плаценти по стінці матки пояснює описаний колективом авторів (А.Я.Сенчук, Т.Д.Задорожная, К.К.Константинов, 1999) важливий факт про те, що при ЗДАВ має місце збільшення маси плаценти при незміненому об'ємі цього органу – тобто відбувається ущільнення тканини плаценти. Наведені нами результати досліджень периферійних відділів плаценти дозволяють більш конкретно пояснити ущільнення тканини плаценти в цілому: воно насправді пов'язано головним чином з ущільненням тканини плаценти саме по периферії органу. За звичайних умов у периферійних відділах плаценти в одиниці об'єму знаходиться менша кількість ХВ (також менший їх питомий об'єм) ніж у центральних та парацентральных відділах (К. Benirschke, P. Kaufmann, 2000), а при ЗДАВ ситуація щодо щільності розташування ХВ по тканині плаценти між різними відділами має тенденцію до урівноваження.

У термін гестації 28-36 тижнів відмічалися всі особливості порушень дозрівання ХВ, які виявлені для попереднього відрізка гестації, а також додатково встановлено порушення процесів перетворення термінальних ХВ у термінальні "спеціалізовані" ХВ, тобто власне гальмувалися процеси утворення синцитіокапілярних мембран – переміщення капілярів термінальних ХВ безпосередньо під трофобласт з відповідним потоншенням СТ і відсуненням його ядер у цій локалізації в інші ділянки синцитію. Потрібно думати, що значну роль у порушенні потрібного гестаційного процесу утворення синцитіокапілярних мембран при ЗДАВ відігравав трофобласт, а саме – його певна недозрілість, на що вказували принаймні чотири факти: збільшення кількості клітин ЦТ у термінальних ХВ, велика товщина трофобластичного покриву (характерна для більш ранніх термінів вагітності), знижена концентрація гормону плацентарного лактогену, а також знижена концентрація та активність ферменту плацентарної лужної фосфатази в СТ. Можливо, саме недостатня продукція плацентарного лактогену та плацентарної лужної фосфатази в СТ за

умов ЗДАВ була провідною причиною порушення утворення синцитіокапілярних мембран і відповідної недостатності дозрівання термінальних ХВ у термінальні "спеціалізовані" ХВ, оскільки морфогенетична регулююча роль цих молекулярних сполук є цілком відчутною у плаценті (К. Benirschke, P. Kaufmann, 2000).

Слід спробувати в'яснити, чому має місце порушення дозрівання СТ. Отримані нами дані щодо різних молекулярних процесів у трофобласті ХВ (вільнорадикальні процеси, процеси проліферації та регенерації трофобласта, процеси відмирання СТ – через механізми апоптозу) дозволяють вибудувати наступну схему пояснення порушень дозрівання СТ.

Все розпочинається з того, що посилюються процеси ушкодження СТ чинниками материнської крові. Серед реальних чинників материнської крові особливо слід виділити гіпоксію та інтенсифікацію вільнорадикальних процесів, хоча, окрім названих, існують інші також суттєві фактори, наприклад, залізодефіцит (з якого власне все і починається), порушення білкового гомеостазу в крові матері, відхилення у процесах згортання материнської крові тощо. Тобто на трофобласт діє цілий комплекс ушкоджуючих чинників. Які є ознаки ушкодження СТ? Спочатку було зареєстровано зростання інтенсивності процесів вільнорадикального окиснення в СТ з головним наслідком – підсиленням ОМБ у СТ. Далі слід вказати на підвищення числа ядер СТ з міжнуклеосомальними розривами ДНК, про що дізналися завдяки застосуванню методики TUNEL, а також по намаганням СТ відновити ушкоджену ядерну ДНК. Це встановили по багаторазовому зростанню числа PCNA-позитивних ядер СТ, причому зростання не можна було пояснити тільки підвищеною проліферативною активністю ЦТ з наступним злиттям останнього з СТ. Ще одним доказом ушкодження ядер СТ була більш рання гестаційна поява синцитіальних вузликів (місць накопичення ушкоджених ядер) при ЗДАВ, та більша кількість їх у порівнюваних термінах вагітності.

Можна припустити, що ушкодження СТ при ЗДАВ викликало стимуляцію регенерації трофобласта, що проявило себе підсиленою проліферативною активністю ЦТ у всіх типах ХВ і відповідно форсованими процесами злиття ЦТ з СТ. Оскільки експресія плацентарного лактогену в ЦТ конституційно є дуже низькою, то зниження експресії цього гормону в СТ можна як раз пояснити масовим прибуттям до нього нових (ще функціонально незрілих з точки зору диференціювання трофобласта) клітин ЦТ.

Посилена проліферація ЦТ може також частково пояснити обстановку щодо КГ. Існує достатньо доказів того, що КГ є прямими похідними від ЦТ. Інших джерел для КГ достеменно не встановлено. При ЗДАВ виявлено збільшення числа КГ в ХВ, причому воно є великим не тільки в зв'язку із збільшенням при ЗДАВ числа ХВ, які конституційно містять значну кількість КГ, але навіть і за рахунок збільшення їх середнього числа в проміжних незрілих, проміжних зрілих та термінальних ХВ (із розрахунку на одну ХВ). Останнє було видно, починаючи з 32-33-го тижнів

гестації. Збільшення популяції КГ можна також пояснити більшим їх виживанням, про що свідчили особливості вивчених молекулярних механізмів апоптозу в цих клітинах та зменшення відсотка деградованих форм КГ при ЗДАВ. Персистенція КГ у ХВ цілком може пояснити порушення трансформацій стовбурових "ранніх" ХВ у стовбурові "пізні" ХВ, проміжних незрілих ХВ у проміжні зрілі ХВ, затримку утворення термінальних ХВ з проміжних зрілих ХВ.

Персистенція КГ в значній мірі може пояснити факт підсилення процесів утворення капілярів ХВ при ЗДАВ I-II ст., оскільки КГ виробляють такий фактор росту судин як VEGF, причому при ЗДАВ I-II ст. продукція цього молекулярного чинника суттєво зростає. При ЗДАВ III ст. на відміну від ЗДАВ I-II ст. велика кількість КГ не може забезпечити зростання масиву капілярів ХВ, бо в клітинах Гофбауера, як і в СТ, знижується продукція VEGF. Власне з цієї причини при ЗДАВ III ст. знижується величина абсолютної поверхні капілярів, що ще більше ускладнює двосторонні дифузійні процеси в плаценті. Зниження продукції VEGF у СТ при ЗДАВ III ст., очевидно, ускладнює наближення капілярів до СТ, що ще більше погіршує дифузійні процеси, бо потовщується в цілому плацентарний бар'єр.

Описані закономірності підтверджуються високими значеннями (і вірогідністю – $P < 0,05$) коефіцієнтів канонічної кореляції між процесами регуляції чисельності клітин, вільнорадикального окиснення, продукції специфічних біомолекул клітинами, білкового обміну в ХВ.

У термін гестації 28-36 тижнів було виявлено підсилене утворення інтервільозного фібрин-фібриноїду в плаценті при всіх ступенях ЗДАВ. Можна припустити, що причиною цього є підсилене відділення уламків цитоплазми разом з ядрами або їх фрагментами СТ, яке виникає внаслідок описаних вище явищ ушкодження СТ та відповідної активізації процесів загибелі ядер СТ. Можливо, що процес підсиленого фібриноутворення на поверхні ХВ пов'язаний з вивільненням із трофобласта тканинних тромбопластинів, але на підставі отриманих даних більш вірогідним здається інше. Річ у тому, що при ЗДАВ виявлено збільшення числа ХВ з експресією протеїну інтегринового типу (інтегрину $\beta\text{Hv}2$) на поверхні СТ. Одним із лігандів для інтегрину $\beta\text{Hv}2$ є фібриноген, тому зростання експресії інтегрину $\beta\text{Hv}2$ повинно супроводжуватися і накопиченням в місцях його локалізації фібриногену з наступною його полімеризацією до фібрину. Доказом існування такого зв'язку є присутність експресії інтегрину $\beta\text{Hv}2$ у складі інтервільозного фібриноїду, причому переважно на поверхні останнього. Більше того, у складі фібриноїду можна було побачити структурно неупорядковану експресію молекулярних продуктів, що в принципі характерні для СТ (плацентарний лактоген, плацентарну лужну фосфатазу, протеїн Вах), а також ядра, або їх фрагменти (всі TUNEL-позитивні). Таким чином, процес підсиленого утворення інтервільозного фібриноїду при ЗДАВ можна представити наступним ланцюгом подій. Спочатку підсилюється ушкодження СТ та утворення на його поверхні інтегрину $\beta\text{Hv}2$.

Відділення фрагментів СТ від його поверхні у кровоток матері утруднюється адгезивною дією інтегрину $\beta\text{Hv}2$; одночасно до інтегрину $\beta\text{Hv}2$ приєднується фібриноген – утворюється конгломерат із вказаних складових. Згодом на місці конгломерату руйнуються фрагменти СТ і з них вивільняються тканинні тромбопластини, які викликають в решті полімеризацію фібриногену з утворенням фібрину. Окрім того, очевидно, що згодом до такого інтервільозного фібриноїду приєднуються різні компоненти материнської крові, які також сприяють підсиленому утворенню фібрину. Зокрема, в дослідженнях мазків венозної крові вагітної та препаратів-відбитків плаценти було показано, що в інтервільозних просторах при ЗДАВ реально створюються умови для підсиленого руйнування материнських еритроцитів і відповідного вивільнення еритроцитарних тромбопластинів. За таким сценарієм може бути включений додатковий (материнський) механізм підсиленого утворення інтервільозного фібриноїду при ЗДАВ.

Цікаві факти були виявлені при аналізі стану волокнистого компонента строми проміжних зрілих ХВ та стромальних клітин, які займаються продукцією молекулярних компонентів, що входять до складу волокон. При ЗДАВ I-II ст. мало місце зниження питомого об'єму волокнистого компонента строми ХВ (на відміну від ЗДАВ III ст., де відмічалось збільшення вказаного показника). Тимчасом при ЗДАВ I-II ст. морфологічно та через молекулярні дослідження встановлено підсилення процесів апоптозу стромальних клітин, тоді коли при ЗДАВ III ст. такого не виявлено. Таким чином, можна думати про те, що зниження процесів утворення волокнистого компонента в ХВ при ЗДАВ у значній мірі регулюється процесами контролю чисельності стромальних клітин. Наслідком різного перебігу вказаних процесів є те, що при ЗДАВ I-II ст. створюються кращі умови для дифузійних процесів на території ХВ, а при ЗДАВ III ст. – навпаки.

У термін гестації 37-40 тижнів зберігаються всі закономірності реакції ХВ на ЗДАВ, які описані для матеріалу передчасних пологів. Єдиною відмінністю є те, що тільки в зазначений термін вагітності вперше відмічається зниження концентрації білку в цитоплазмі СТ. Щоправда, це стосується лише ЗДАВ III ст., тому (а також з урахуванням часу появи феномену) зниження концентрації білку в СТ слід розцінити як крайній прояв декомпенсації порушень обміну білків у вказаній локалізації.

Підводячи підсумок вищенаведеного аналізу патологічних змін у ХВ при ЗДАВ, необхідно вказати на те, що головною першопричиною і зв'язуючою ланкою всіх основних порушень є ушкодження СТ комплексом чинників, які містяться у крові матері. Інші події у ХВ запускаються автоматично в зв'язку з певними реакціями трофобласта ХВ.

Окрім змін у ХВ як складова плацентарної недостатності при ЗДАВ була також виявлена патологія МПД. Знайдені у цьому дослідженні зміни МПД у науковій літературі дотепер не описані. Сутність цих змін полягає в тому, що, вже починаючи з терміна 13-27 тижнів, у МПД гальмуються процеси гестаційної перебудови спіральних артерій, наслідком чого є зменшення їх

числа з повною гестаційною перебудовою. Вказана закономірність щодо спіральних артерій МПД при ЗДАВ залишається чинною до завершення вагітності. На підставі проведених молекулярних досліджень в якості головної причини гальмування гестаційної перебудови спіральних артерій при ЗДАВ позиціонується підсилена активність проапоптотичних факторів у цитоплазмі ЦТ, який досяг спіральних артерій і занурився в їх стінку. Причому, мова йде про активацію Вах-залежного апоптозу, для якого облігатним (автоматичним) є глибока мітохондріальна дисфункція клітини. Враховуючи визначну роль мітохондрій у виконанні ЦТ його функцій, стає зрозумілим недостатність руйнування трофобластом судинної стінки спіральних артерій МПД при ЗДАВ та заміщення її фібриноїдом – фізіологічного необхідного процесу. Причиною активації процесів апоптозу в ЦТ спіральних артерій при ЗДАВ скоріше за все є підсилення вільнорадикальних процесів, адже "чиста" гіпоксія навпаки стимулює інвазію ЦТ у глибину МПД (А.П.Милованов, А.К.Кириченко, 2001). Можливо, для недостатності ЦТ має значення залізодефіцит або інші порушення метаболізму в крові матері, що характерні для ЗДАВ. Недостатність гестаційних перебудов спіральних артерій МПД в принципі створює умови для зниження перфузії інтервільозних просторів плаценти материнською кров'ю. Напевно, цей фактор був важливим стимулом для органної перебудови плаценти, яка полягала в паралельному зменшенні її товщини, але збільшенні площі найбільшого перетину (материнської поверхні) органу, адже гестаційний час описаних змін приблизно співпадає.

Наведений аналіз результатів досліджень хоріальних ворсин плаценти, структур матково-плацентарної ділянки та стану материнських еритроцитів у венозній крові та препаратах-відбитках плаценти дозволив зробити ще одне важливе узагальнення: при ЗДАВ формується своєрідне вадне коло (патологія материнської крові викликає зміни в МПД та ХВ; подальший ланцюг подій у трофобласті ХВ створює умови для підсиленого руйнування еритроцитів в материнській крові безпосередньо інтервільозних просторів та взагалі в організмі матері, що поглиблює дефіцит материнських еритроцитів; останній, а також речовини, які звільняються при руйнуванні материнських еритроцитів у інтервільозних просторах поглиблюють порушення в трофобласті ХВ і т.д.).

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне узагальнення результатів клінічного та експериментального патоморфологічного дослідження провізорних структур (хоріальних ворсин, матково-плацентарної ділянки, пуповини, плодових оболонок), а також еритроцитів крові інтервільозних просторів плаценти та венозної крові матері з встановленням клітинних та молекулярних механізмів формування морфологічної складової синдрому плацентарної недостатності при залізодефіцитній анемії вагітних. На підставі отриманих результатів вперше вирішена актуальна науково-практична проблема гестаційної патоморфологічної діагностики

синдрому плацентарної недостатності при залізодефіцитній анемії вагітних з виділенням критеріїв його діагностики для відрізків гестації: 13-16, 17-20, 21-24, 25-27, 28-32, 33-36, 37-40 тижнів та пролонгованої вагітності. Обґрунтовано новий науковий напрям: "Гестаційні механізми формування синдрому плацентарної недостатності при акушерській та екстрагенітальній патології матері".

1. Залізодефіцитна анемія вагітних, починаючи з 13 тижнів і до завершення гестації, супроводжується морфологічними проявами синдрому плацентарної недостатності з локалізацією їх не тільки в хоріальному дереві, але також у матково-плацентарній ділянці. У пуповині та хоріальних оболонках зміни, які можна було би асоціювати з анемією, відсутні у всі терміни гестації.
2. Провідним морфологічним проявом патології хоріального дерева при залізодефіцитній анемії вагітних є гальмування процесів дозрівання хоріальних ворсин, а такі важливі ознаки синдрому плацентарної недостатності як зміни дифузійної характеристики плацентарного бар'єра та порушення синтетичних функцій трофобласта хоріальних ворсин (зниження продукції хоріонічного гонадотропіну, плацентарного лактогену, плацентарної лужної фосфатази тощо) є його наслідками.
3. Серед стовбурових хоріальних ворсин для повноцінної діагностики порушень дозрівання хоріального дерева слід виділяти їх "ранні" та "пізні" варіанти. "Ранні" хоріальні ворсини характеризуються наявністю в них стромальних каналів, значної кількості клітин Гофбауера, неповнотою формування артеріальних та венозних судин, що проявляється відсутністю в них м'язової оболонки. Критеріями "пізніх" хоріальних ворсин є відсутність стромальних каналів та клітин Гофбауера, повна сформованість всіх оболонок артерій та вен.
4. Гальмування дозрівання хоріального дерева при залізодефіцитній анемії вагітних відбувається на межі наступних трансформацій хоріальних ворсин: а) від стовбурових "ранніх" до стовбурових "пізніх"; б) від проміжних незрілих до проміжних зрілих; в) від термінальних до термінальних "спеціалізованих".
5. Ключовою ланкою в процесі порушення трансформацій хоріальних ворсин є персистенція клітин Гофбауера, які відіграють суттєву регуляторну роль у дозріванні стромальних елементів хоріальних ворсин. Персистенція клітин Гофбауера в хоріальних ворсинах при залізодефіцитній анемії вагітних в свою чергу зумовлена двома чинниками: а) зниженням потенціалу проапоптотичних чинників у цих клітинах в зв'язку зі зменшенням в їх цитоплазмі інтенсивності процесів транслокації та гомоолігомеризації протеїну Вах; б) підсиленою проліферацією попередників клітин Гофбауера – цитотрофобласта хоріальних ворсин.

6. Підсилена проліферація цитотрофобласта хоріальних ворсин при залізодефіцитній анемії вагітних пояснюється як гіпоксією так і зростанням інтенсивності процесів регенерації ушкодженого синцитіотрофобласта.
7. Ушкодження синцитіотрофобласта хоріальних ворсин при залізодефіцитній анемії вагітних пов'язано з безпосереднім впливом на нього різних факторів материнської крові, які спричиняють підсилення в синцитіотрофобласті вільнорадикальних процесів з наступною активізацією молекулярних механізмів Вах-залежного апоптозу та інтенсифікацією процесів видалення апоптотично змінених ядер з фрагментами цитоплазми за межі території хоріальних ворсин.
8. Формування судин та позасудинного компонента строми в хоріальних ворсинах мають розбіжності серед різних ступенів тяжкості залізодефіцитної анемії вагітних, причому ці розбіжності проявляються, в цілому, створенням значно гірших умов для дифузійних процесів у плацентарному бар'єрі при анемії III ст. у порівнянні з I-II ст. хвороби.
9. Порушення формування судин та позасудинної строми при анемії III ст. в значній мірі зумовлено зниженням продукції клітинами Гофбауера та трофобластом хоріальних ворсин низки молекулярних сполук, що регулюють стромальний морфогенез хоріальних ворсин (васкулярний ендотеліальний фактор росту, плацентарний лактоген, хоріонічний гонадотропін, плацентарна лужна фосфатаза).
10. При залізодефіцитній анемії вагітних не тільки вплив крові матері на хоріальні ворсини має місце, але й відбувається ушкодження материнських еритроцитів безпосередньо в інтервільозних просторах плаценти, що формує своєрідне вадне коло: ушкодження плаценти (внаслідок патології материнської крові) → поглиблення патології материнської крові → поглиблення ушкодження плаценти і т.д.
11. Підсилене утворення інтервільозного фібриноїду при залізодефіцитній анемії вагітних відбувається за наступним механізмом: спочатку в синцитіотрофобласті зростають процеси апоптозу та експресія інтегрину бХв2; останній завдяки своїм адгезивним властивостям не дає можливості фрагментам синцитіотрофобласта негайно залишити поверхню хоріальних ворсин, та, окрім того, приєднує один із своїх лігандів – фібриноген крові матері; локалізований таким чином на поверхні хоріальних ворсин фібриноген внаслідок вивільнення тканинних та еритроцитарних тромбопластинів із зруйнованих фрагментів трофобласта та гемолізованих в інтервільозних просторах материнських еритроцитів згодом полімеризується у фібрин; останній здійснює завершальне формування конгломерату із залишків синцитіотрофобласта та елементів материнської крові.
12. У матково-плацентарній ділянці при залізодефіцитній анемії вагітних порушується гестаційна перебудова спіральних артерій, що викликано, головним чином, підсиленням процесів

апоптозу інвазивного цитотрофобласта безпосередньо у стінках кровоносних судин з порушенням його інвазивних властивостей. Недостатність гестаційної перебудови спіральних артерій є морфологічною передумовою погіршення перфузії інтервільозних просторів, що спричиняє підсилення ефекту анемічної гіпоксії хоріальних ворсин через приєднання циркуляторної гіпоксії.

13. При залізодефіцитній анемії вагітних I-II ст. на відміну від III ст. розвивається характерна органна перебудова плаценти, морфологічна сутність якої полягає в гальмуванні росту плаценти в товщину, але паралельному підсиленні відцентрового росту плаценти по площі матково-плацентарної ділянки. Вказана перебудова носить пристосувальний та компенсаторний характер і є морфологічною основою спроб плаценти щодо оптимізації кровообігу в інтервільозних просторах при збереженні загального масиву плацентарних структур. Відсутність вказаної пристосувально-компенсаторної органної перебудови плаценти при анемії III ст. є одним із вагомих внутрішніх чинників прогресування патологічних змін у хоріальному дереві при залізодефіцитній анемії вагітних.

Практичний висновок

Для діагностики порушень дозрівання хоріального дерева доцільно використовувати класифікацію хоріальних ворсин на: а) мезенхімальні; б) ембріональні; в) стовбурові "ранні"; г) стовбурові "пізні"; д) проміжні незрілі; е) проміжні зрілі; є) термінальні; ж) термінальні "спеціалізовані" ворсини.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Публікації у фахових виданнях, рекомендованих ВАК України.

1. Давиденко І.С. Напівавтоматичний кількісний комп'ютерний аналіз мікроскопічного зображення в гістопатології // Буковинський медичний вісник. - 2000.- Т.4, №2.- С. 165-169.
2. Давиденко І.С. Комп'ютерно-денситометричні параметри білкового компонента міжворсинкового фібриноїду плаценти та їх залежність від еритроцитарних показників материнської крові // Буковинський медичний вісник. - 2000.- Т.4, №4.- С. 134-139.
3. Давиденко І.С. Модифікація гістохімічної методики фарбування фібрину та колагенових волокон у плаценті // Буковинський медичний вісник. - 2001.- Т.5, №1.- С. 147-150.
4. Давиденко І.С. Методологія досліджень порушень морфогенезу плаценти // Буковинський медичний вісник. - 2001.- Т.5, №2-3.- С.51-53.
5. Давиденко І.С., Приходько С.Д. Гістопатологія незрілості хоріального дерева залежно від форми хронічної плацентарної недостатності // Клінічна та експериментальна патологія. - 2002.- Т.1, №1.-С.15-17. (Автором виконано гістологічне дослідження хоріального дерева, статистична обробка отриманих результатів та написання тексту статті).

6. Давиденко І.С. Гістоморфологія порушень дозрівання плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних // Вісник наукових досліджень. - 2002.- №2 (д.).- С.33-35.
7. Давиденко І.С. Морфометричні параметри мікроциркуляції в термінальних ворсинах при гістологічних ознаках незрілості плаценти у 37-40 тижнів вагітності // Буковинський медичний вісник. - 2002.- Т.6 , №2-3.- С. 33-36.
8. Давиденко І.С., Жук О.С., Солован Н.І. Комп'ютерна денситометрія продуктів гістохімічних реакцій у плаценті // Вісник проблем біології і медицини. - 2003.- Вип.1.- С.89-91. (Автором виконана комп'ютерна денситометрія продуктів гістохімічних реакцій, проведена статистична обробка отриманих результатів та написання тексту статті).
9. Пішак В.П., Давиденко І.С., Роговий Ю.Є. Комп'ютерно-денситометричні та спектральні параметри білкового компонента трофобласта, децидуоцитів, материнських і плодових еритроцитів плаценти при експериментальній гіпохромній анемії вагітних // Одеський медичний журнал. - 2003.- №.6 – С. 26-29. (Автором здійснено всю частину експерименту після запліднення лабораторних тварин, виконано гістологічне та гістохімічне дослідження хоріального дерева, проведена статистична обробка отриманих результатів та написання тексту статті).
10. Давиденко І.С., Коваль Ю.І. Деякі аспекти індивідуальної мінливості форми плаценти людини в нормі і при анемії вагітних // Вісник проблем біології і медицини. - 2003.- Вип.4.- С.57-59. (Автором виконані макроскопічні дослідження плаценти, проведена статистична обробка отриманих результатів та написання тексту статті).
11. Давиденко І.С. Експресія CD11с в структурах плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних // Буковинський медичний вісник. - 2004.- Т.8, №3-4.- С.155-158.
12. Давиденко І.С. Оцінка сили впливу залізодефіцитної анемії вагітних на структурні елементи ворсин плаценти за методом Снедекора (однофакторний дисперсійний аналіз) // Клінічна та експериментальна патологія. – 2005.- Т.IV, №2.- С.15-19.
13. Давиденко І.С. Використання теорії інформації для оцінки структурної організації різних типів хоріальних ворсин плаценти при фізіологічній вагітності // Вісник морфології. - 2005. - № 1 (11). – С.5-10.
14. Давыденко И.С., Задорожная Т.Д. Иммуногистохимия плацентарного лактогена с помощью компьютерной микроденситометрии в синцитиотрофобласте плаценты в связи с железодефицитной анемией беременных // Здоровье женщины.- 2005.- №2 (22) - С.35-38. (Автором виконано імуногістохімічне дослідження плаценти, проведена статистична обробка отриманих результатів та написання тексту статті).
15. Давиденко І.С., Задорожна Т.Д. Експресія проліферативно-клітинного нуклеарного антигену в ядрах трофобласта хоріальних ворсин плаценти при залізодефіцитній анемії

вагітних // Перинатологія і педіатрія. – 2005.- №1-2 (23). – С.22-25. (Автором виконано імуногістохімічне дослідження плаценти, проведена статистична обробка отриманих результатів та написання тексту статті).

16. Давиденко І.С. Морфологічна характеристика структур матково-плацентарної ділянки в різні терміни гестації при залізодефіцитній анемії у вагітних // Клінічна та експериментальна патологія. – 2005.- Т.IV, №3.- 49-53.

17. Давиденко І.С. Імуногістохімічний розподіл протеїнів Вах та Vcl-2 у клітинах Гофбауера плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних // Буковинський медичний вісник. - 2005.- Т9, №3.- С.88-91.

18. Давиденко І.С. Органометричні параметри плаценти при поєднанні залізодефіцитної анемії вагітних та хронічної плацентарної недостатності // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2005.- Т.4, №4. – С.27-29.

19. Давиденко І.С. Морфологія еритроцитів венозної крові вагітної та інтервільозних просторів плаценти при залізодефіцитній анемії вагітних, що поєднана з хронічною плацентарною недостатністю // Буковинський медичний вісник. - 2005.- Т.9, №4.- С.19-23.

20. Давиденко І.С. Проліферативна активність цитотрофобласта в хоріальних ворсинах при залізодефіцитній анемії вагітних у термін гестації 5-27 тижнів // Запорізький медичний журнал. – 2006.- №1. – С.37-40.

Патенти.

21. Пат. 41061 А України, МКВ G01N33/483, А61В5/00. Спосіб виготовлення препарату-відбитка плаценти: Пат. 41061 А України МКВ G01N33/483, А61В5/00 І.С. Давиденко (Україна); І.С. Давиденко.- №2001010570; Заявл. 25.01.2001; Опубл. 15.08.2001, Бюл. №7.- 2с.

22. Пат. 51153 А України, МКВ G01N33/483, А61В5/00. Спосіб мікроскопічної діагностики фібрину, колагенових волокон та відкладань кальцію в одному гістологічному зрізі плаценти: Пат. 41061 А України МКВ G01N33/483, А61В5/00 І.С. Давиденко, М.О. Давиденко (Україна); І.С. Давиденко.- №2002010471; Заявл.18.01.2002; Опубл.15.11.2002, Бюл. №11.- 2с. (автором розроблена методика фарбування фібрину та колагенових волокон плаценти, здійснено написання та оформлення тексту винаходу).

Матеріали конференцій та збірників праць, тези доповідей.

23. Давиденко І.С., Левицька А.П., Гречко Д.І. Морфометричні параметри мікроциркуляції термінальних ворсин зрілої плаценти людини в залежності від концентрації гемоглобіну крові матері // Мікроциркуляція та її вікові зміни: Матер. Української наук. Конференції з міжнародною участю, Київ, 1999.- С.31. (Автором виконано морфометричне дослідження

термінальних ворсин плаценти, статистична обробка отриманих результатів та написання тексту тез).

24. Давиденко І.С. Актуальні питання комп'ютерного аналізу мікроскопічного зображення в морфологічних дослідженнях // Актуальні питання клінічної та експериментальної медицини: Матеріали 83-ї підсумкової наукової конференції співробітників Буковинської державної мед. академії, присвяченої 10-й річниці незалежності України. - Чернівці, 2002.- С.133-137.

25. Давиденко І.С. Спосіб виготовлення препарату-відбитка плаценти // Винахідництво та раціоналізаторство в Буковинській державній мед. академії 2000-2002.- С.15/ В.П.Пішак, Р.В.Сенютович, Ю.Є. Роговий та ін., за загальною ред. акад. В.П.Пішака. - Чернівці: Медична академія .- 2002.- 108с.

26. Давиденко І.С., Коваль Ю.І. Частота хронічної плацентарної недостатності на Буковині у 1995-2002 рр. (за даними обласного дитячого патологоанатомічного бюро) // Галицький лікарський вісник, 2003.- Т.10, Число 4.- С. 126. (Автором проведена статистична обробка отриманих результатів та написання тексту тез доповіді).

27. Давиденко І.С. Експериментальна модель гіпохромної анемії вагітних (методика, деякі гематологічні та патологоанатомічні аспекти) // Актуальні питання клінічної та експериментальної медицини: Матеріали 84-ї підсумкової наукової конференції, присвяченої 60-річчю Буковинської державної медичної академії. - Чернівці: БДМА, 2003.- С.143-145.

28. Давыденко И.С., Крылюк М.С. Влияние фармакотерапии препаратами железа на морфологию депозитов кальция в плаценте у женщин с железодефицитной анемией // International Journal on immunorehabilitation. - Выпуск "Физиология и патология иммунной системы".- 2004.- Том 6, №1.- (Материалы IX Международного Конгресса по клинической патологии, Бангкок, Таиланд, 15-23 февраля, 2004.- Москва.) - С. 103-104. (Автором виконано гістологічне дослідження хоріального дерева, статистична обробка отриманих результатів та написання тексту тез доповіді).

29. Давиденко І.С., Курченко І.Ф., Давиденко М.І. Розподіл "інтегрину альфа-Х-бета-2" в структурах плаценти при терміні гестації 37-40 тижнів // Клінічна та експериментальна патологія. - 2004.- Т.ІІІ, №2.- С. 386. (Автором виконане дослідження імуногістохімічних препаратів плаценти, проведена статистична обробка отриманих результатів та написання тексту статті).

30. Давиденко І.С. Робоча класифікація хоріальних ворсин плаценти для цілей інформаційного аналізу // Актуальні питання клінічної та експериментальної медицини: Матеріали 85-ї підсумкової наукової конференції, присвяченої 60-річчю Буковинської державної медичної академії. - Чернівці: БДМА, 2004.- С.283-286.

31. Давиденко І.С. Гіпотеза про пристосувальне значення зупинки росту плаценти у товщину в процесі розвитку // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. - 2004.- Т.3, №3. – С.67-68.
32. Давиденко І.С., Пішак В.П., Коломoeць М.Ю., Сидорчук І.Й. Експресія проліферативного клітинного нуклеарного антигену в ядрах епітелію хоріальних ворсин плаценти при передчасних пологах на фоні залізодефіцитної анемії вагітних // Актуальні питання клінічної та експериментальної медицини: Матеріали 86-ї підсумкової конференції науковців Буковинського державного медичного університету. - Чернівці: Медуніверситет, 2005.- С.111-115. (Автором виконано імуногістохімічне та гістологічне дослідження плаценти, проведена статистична обробка отриманих результатів та написання тексту статті).

АНОТАЦІЯ

Давиденко І.С. Патоморфологічні аспекти формування синдрому плацентарної недостатності при залізодефіцитній анемії вагітних. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.02 – патологічна анатомія. – Національний медичний університет імені О.О.Богомольця МОЗ України, Київ, 2006.

Робота присвячена питанням формування плацентарної недостатності (ПН) при залізодефіцитній анемії вагітних (ЗДАВ).

Встановлено морфологічні прояви ПН при ЗДАВ в хоріальному дереві та матково-плацентарній ділянці (МПД), розкриті клітинні та молекулярні механізми порушення дозрівання хоріального дерева. Виявлена можливість розвитку вадного кола при ЗДАВ: ушкодження плаценти → поглиблення патології материнської крові → поглиблення ушкодження плаценти і т.д. Висунута гіпотеза про адаптивний характер перебудови плаценти при ПН. Показано, що її сутність полягає в гальмуванні росту плаценти в товщину, але підсиленні росту по площі МПД. Перебудова є морфологічною основою спроб плаценти щодо оптимізації кровообігу в інтервільозних просторах при збереженні загального масиву структур. Відсутність перебудови при ЗДАВ III ст. може бути одним із чинників прогресування патологічних змін у хоріальному дереві. На підставі отриманих результатів вирішена проблема гестаційної патоморфологічної діагностики ПН при ЗДАВ. Обґрунтовано новий науковий напрям: "Гестаційні механізми формування ПН при акушерській та екстрагенітальній патології".

Ключові слова: залізодефіцитна анемія вагітних, синдром плацентарної недостатності, плацента, хоріальні ворсини, матково-плацентарна ділянка.

АННОТАЦІЯ

Давыденко И.С. Патоморфологические аспекты формирования синдрома плацентарной недостаточности при железодефицитной анемии беременных. - Рукопись.

Диссертация на соискание научной степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.02 - патологическая анатомия. - Национальный медицинский университет имени О.О.Богомольца МЗ Украины, Киев, 2006.

Работа посвящена вопросам формирования структурной составляющей синдрома плацентарной недостаточности при железодефицитной анемии беременных на протяжении гестационного периода. Методами макроскопии и микроскопического исследования с гистометрическим, цитометрическим, гистостереометрическим компьютерным анализом, а также с широким использованием гистохимии, иммуногистохимии, лектиноиммуногистохимии, хемилюминесценции в сочетании с компьютерной денситометрией и спектральным анализом исследовано хориальное дерево плаценты, пуповина, плодные оболочки, маточно-плацентарная область, форменные элементы материнской крови. Поставлен эксперимент на лабораторных животных с моделированием железодефицитной анемии и последующим морфологическим исследованием плаценты. Используются различные адекватные методы статистики, включая методы непарных и парных сравнений, дисперсионный анализ (включая повторные измерения), методы множественных сравнений средних, регрессионный анализ (линейный и нелинейный), кластерный анализ, методы бинарной и канонической корреляции и др. Впервые установлено, что при железодефицитной анемии беременных клинически важные морфологические проявления синдрома плацентарной недостаточности локализуются не только в хориальном дереве, но также в спиральных артериях и других структурах маточно-плацентарной области. Для улучшения диагностики нарушений дозревания хориального дерева на основании методов теории информации усовершенствована классификация хориальных ворсин с выделением следующих типов: а) мезенхимальные; б) эмбриональные; в) стволовые "ранние"; г) стволовые "поздние"; д) промежуточные незрелые; е) промежуточные зрелые; ж) терминальные; з) терминальные "специализированные хориальные ворсины". Суть усовершенствования классификации состоит в выделении среди стволовых хориальных ворсин их "ранних" и "поздних" вариантов. На примере железодефицитной анемии беременных раскрыты механизмы нарушения дозревания хориального дерева (через переключение клеточных и молекулярных механизмов регуляции численности и дифференцирования клеток хориальных ворсин, а также через установление новых возможных путей трансформаций хориальных ворсин, в частности, показана возможность прямой трансформации промежуточных незрелых в промежуточные зрелые хориальные ворсины). Впервые выявлена возможность негативного влияния поврежденной плаценты на состояние материнских эритроцитов при железодефицитной анемии беременных, что позволило

сформулировать понятие о своеобразном порочном круге при этой болезни: повреждение плаценты (вследствие системной патологии материнской крови) → углубление патологии материнской крови → углубление повреждения плаценты и т.д. Установлено, что усиленное образование интервиллезного фибриноида при железодефицитной анемии беременных происходит по следующему механизму: сначала в синцитиотрофобласте возрастают процессы апоптоза и экспрессия интегрина $\alpha_5\beta_1$; последний благодаря своим адгезивным свойствам не дает возможности фрагментам синцитиотрофобласта немедленно оставить поверхность хориальных ворсин, и, кроме того, присоединяет один из своих лигандов - фибриноген крови матери; локализованный таким образом на поверхности хориальных ворсин фибриноген вследствие высвобождения тканевых и эритроцитарных тромбопластинов из разрушенных фрагментов трофобласта и гемолизированных в интервиллезных пространствах материнских эритроцитов со временем полимеризуется в фибрин; последний осуществляет завершающее формирование конгломерата из остатков синцитиотрофобласта и элементов материнской крови. Выдвинута гипотеза об универсальном приспособительном характере органических перестроек плаценты при синдроме плацентарной недостаточности, осуществлено обоснование гипотезы исходя из теоретических позиций, а также через конкретные результаты собственных исследований. Показано, что морфологическая сущность органической перестройки заключается в торможении роста плаценты в толщину, но параллельном усилении роста плаценты по площади маточно-плацентарной области. Указанная перестройка является морфологической основой попыток плаценты относительно оптимизации кровообращения в интервиллезных пространствах при сохранении общего массива плацентарных структур. Отсутствие приспособительно-компенсаторной органической перестройки плаценты при анемии III ст. может быть одним из внутренних факторов прогресса патологических изменений в хориальном дереве.

На основании полученных результатов впервые решена актуальная научно-практическая проблема гестационной патоморфологической диагностики синдрома плацентарной недостаточности при железодефицитной анемии беременных с выделением критериев его диагностики для определённых отрезков гестации: 13-16, 17-20, 21-24, 25-27, 28-32, 33-36, 37-40 недель, а также для пролонгированной беременности. Обосновано новое научное направление: "Гестационные механизмы формирования синдрома плацентарной недостаточности при экстрагенитальной патологии матери".

Ключевые слова: железодефицитная анемия беременных, синдром плацентарной недостаточности, плацента, хориальные ворсины, маточно-плацентарная область.

ANNOTATION

Davydenko I.S. Pathomorphological aspects of forming of syndrome of placental insufficiency at iron-deficiency anaemia of pregnant. - Manuscript.

Dissertation on competition of scientific degree of doctor of medical sciences in specialty 14.03.02 - pathological anatomy. - National Medical University named after O.O.Bogomolets, Ministry of Health of Ukraine, Kiyv, 2006.

The work is devoted to questions of forming of placental insufficiency (PI) at iron-deficiency anaemia of pregnant (IDAP).

At IDAP morphological signs of PI localize in chorial tree and utero-placental region (UPR). Were expose cellular and molecular machineries of violation of ripening of chorial tree. Was exposed possibility of development of vicious circle at IDAP: damage of placenta → deepening of pathology of maternal blood → increasing damage of placenta etc. The hypothesis pulled out about adaptive character of alterations of placenta at PI. It is shown, that their essence consists in braking of growth of placenta in thickness, but strengthening of growth on area UPR. The indicated alteration is morphological basis of attempts of placenta in relation to optimization of circulation of blood in intervillous spaces at saving of general array of placenta structures. Absence of alteration of placenta at anaemia of III degree can be one of internal factors of progress of pathological changes in chorial tree. On basis of results decided actual scientific and practical problem of gestational pathomorphological diagnostics of PI at IDAP over. Was founded new line of investigation: "Gestational machineries of forming of PI at extragenital pathology".

Keywords: iron-deficiency anaemia of pregnant, syndrome of placental insufficiency, placenta, chorial villi, utero-placental region.