

DOI 10.29254/2077-4214-2021-4-162-266-271
 УДК 616.3:616.12-008.331.1:616-005.98:618.333-091.8
 Зац О. С.

**ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ АМНІОНУ У ВИПАДКУ УСКЛАДНЕНЬ
 ВАГІТНОСТІ ТА АНТЕІНТРАНАТАЛЬНОЇ ЗАГИБЕЛІ ПЛОДА**

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна (м. Харків, Україна)

olgse@ukr.net

При вагітності на тлі прееклампсії, залізодефіцитної анемії вагітних, гострого хоріоамніоніту збільшує ризик передчасного розриву плодових оболонок, з яким пов'язують 40-75% перинатальних втрат. Метою нашого дослідження стало визначення імуногістохімічних та морфометричних особливостей епітелію та мезодерми амніону при мертвонародженні у вагітних з прееклампсією, залізодефіцитною анемією та гострим хоріоамніонітом. Досліджено оболонки мертвонароджених недоношених (n=8) та доношених (n=8) плодів при прееклампсії, недоношених (n=8) та доношених (n=8) плодів при залізодефіцитній анемії, недоношених (n=10) та доношених (n=16) плодів при гострому хоріоамніоніті, та доношених новонароджених при фізіологічній вагітності (n=8). Імуногістохімічно оцінку клітинного складу амніону та розподілу інтерстиційних колагенів виявляли за експресією маркера епітеліальних клітин цитокератину (Cytokeratin PAN AE1/AE3), маркера мезенхімальних клітин віментину (Vimentin V9), маркерів колагенів I, III, IV типів з визначенням рівня експресії цитокератину, колагенів I, III типів. Статистичну обробку проводили за допомогою програмного пакету Statistica 6.0 та Microsoft Excel 2003. Аналіз проведених імуногістохімічних реакцій виявив в фетальних мембранах контрольної та клінічних груп ознаки епітеліально-мезенхімальної трансформації амніотичного епітелію у вигляді зниження експресії цитокератину і появи віментин-позитивних клітин, що прогресували зі збільшенням терміну гестації. У контрольній та клінічних групах з доношеною вагітністю встановлено сильний позитивний кореляційний зв'язок між рівнем експресії цитокератину амніотичним епітелієм і рівнями експресії інтерстиційних колагенів I і III типів в амніотичній мезодермі ($p < 0,5$ для всіх груп), що обумовлено придбанням амніотичним епітелієм властивостей мезенхімальних клітин з колагенолітичною активністю. Отримано данні щодо епітеліально-мезенхімальної трансформації амніотичного епітелію з набуттям їм колагенолітичних властивостей, що посилюються при ускладненій вагітності.

Ключові слова: прееклампсія, анемія, хоріоамніоніт, плодові оболонки, імуногістохімія.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Дослідження є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи «Виявлення впливу патології матері на розвиток організму плода та новонародженого», державна реєстрація № 0117U004838.

Вступ. Результат вагітності та пологів багато в чому залежить від стану фетальних мембран, які забезпечують підтримку внутрішньоутробного і-

снування плода, виконуючи трофічну, дихальну, видільну, захисну функції, беруть участь у продукції простагландинів, хоріонічного гонадотропіну, інтерлейкіну 4, що мають значення для моторики матки [1]. Цілісність мембран зазвичай зберігається протягом усієї вагітності завдяки добре збалансованому гомеостазу руйнівних матриксологенолітичних ферментів та їх інгібіторів [2]. Водночас зі зростанням плода спостерігається старіння фетальних мембран, що призводить до пошкодження їхніх тканин і викликає в них стерильну запальну реакцію, що зумовлює їх своєчасний розрив під час пологів [3].

Разом із тим приблизно 3-10% усіх вагітностей ускладнюється передчасним розривом плідних оболонок (ПРПО), з чим пов'язують 40–75% перинатальних втрат [4, 5]. Перебіг вагітності на тлі прееклампсії (ПЕ), залізодефіцитної анемії вагітних (ЗДА), гострого хоріоамніоніту (ХА) збільшує ризик розвитку ПРПО [6, 7, 8]. Ці ускладнення вагітності патогенетично пов'язані з факторами, що зумовлюють розвиток ПРПО, серед яких найбільше значення надається окиснювальному стресу з розвитком асептичного запалення, децидуальної кровотечі з формуванням ретроплацентарної гематоми в першому триместрі вагітності або запаленню плаценти і фетальних мембран. Наведені фактори сприяють виробленню медіаторів запалення, а також запуску каскадних реакцій, внаслідок чого збільшується швидкість деградації колагену та інших компонентів позаклітинного матриксу плідних оболонок, що призводить до несвоєчасного розриву мембран [9].

Велику роль в деградації колагену фетальних мембран відіграють матриксні металопротеїнази (ММП), які знаходяться в децидуальному шарі, плодових оболонках та навколоплідних водах. Зокрема, синцитіотрофобласти плаценти та епітеліальні клітини амніону продукують виключно ММП-9, збільшення експресії якої може сприяти деградації позаклітинного матриксу в мембранах плода і плаценті, тим самим полегшуючи розрив плодових мембран та відшарування плаценти від матки матері під час пологів у строк, а також за передчасних пологів [10]. Разом з тим синтез ММП епітеліальними клітинами стає можливим, коли вони набувають мезенхімальних властивостей, що здійснюється в результаті епітеліально-мезенхімальної трансформації (EMT) [11].

У зв'язку з цим вивчення прогресуючих морфологічних змін, що відбуваються у фетальних мембранах при фізіологічній та ускладненій вагітності, необхідне для розробки ефективних заходів, спрямованих на попередження ПРПО та зниження перинатальної смертності.

Метою дослідження стало визначення імуногістохімічних та морфометричних особливостей епітелію та мезодерми амніону при мертвнонародженні у вагітних з прееклампсією, залізодефіцитною анемією та гострим хоріоамніонітом.

Об'єкт і методи дослідження. Досліджено 58 плодів оболонки посліду при антеінтранатальній загибелі плода в терміні гестації 30-40 тижнів. На підставі клінічних даних вагітних сформовані такі групи: недоношена вагітність, ускладнена прееклампсією (ПЕН) (n=8), доношена вагітність, ускладнена прееклампсією (ПЕД) (n=8), недоношена вагітність, ускладнена залізодефіцитною анемією (АН) (n=8), доношена вагітність, ускладнена залізодефіцитною анемією (АД) (n=8), недоношена вагітність, ускладнена гострим хоріоамніонітом (ХАН) (n=10), доношена вагітність, ускладнена гострим хоріоамніонітом (ХАД) (n=16). Гістологічно хоріоамніт було діагностовано з використанням стандартизованих діагностичних критеріїв, запропонованих Redline et al [12]. Випадки вроджених вад розвитку та багатоплідної вагітності були виключені з дослідження. Контрольну групу (КГ) склали 8 випадків вагітності, що мала фізіологічний перебіг і завершилася народженням живого доношеного плода. Матеріал був зібраний у 2016-2019 рр. на базі патологоанатомічного відділення Комунального некомерційного підприємства «Міський перинатальний центр» Харківської міської ради.

Для морфологічного дослідження висікали смужки плодів оболонки завтовшки 4-5 мм поблизу місця їхнього розриву (n=66). Залиті в парафін тканинні блоки були приготовані з використанням стандартної процедури. Виготовляли серійні зрізи завтовшки 4-6 мкм з подальшим забарвленням гематоксиліном та еозином, пікрофуксином за Ван Гізоном. Імуногістохімічний (ІГХ) аналіз проводили за стандартизованими протоколами з використанням моноклональних антитіл (МКА) до цитокератину (Cytokeratin PAN AE-1/AE-3, DAKO, Данія) – для ідентифікації епітеліальних клітин і до віментину (VimentinV9, DAKO, Данія) – для ідентифікації мезенхімальних клітин за допомогою системи візуалізації DAKO EnVision (Данія). Мікропрепарати досліджували на мікроскопі Olympus BX-41 (Японія). Рівень експресії цитокератину вимірювали за допомогою цитофотометричної оцінки оптичної щільності клітинної цитоплазми, яку виражали в умовних одиницях (ум. од.) [13]. Непрямим методом Кунса в модифікації Brosnan M. в амніоні виявляли колагени за допомогою МКА до колагенів I, III, IV типів фірми Novostratra Laboratories Ltd, Великобританія. Як люмінесцентну мітку використовували Fab-2-фрагменти кролячих антитіл проти імуноглобулінів миші, мічені флуоресцеїну ізотіоціанатом (ФІТЦ). Препарати вивчали в люмінесцентному мікроскопі «Axioskop 40» (CarlZeiss, Німеччина). Рівень експресії колагенів I, III типів оцінювали за допомогою цитофотометричного визначення оптичної щільності імунофлуоресценції, яку виражали в умовних одиницях світіння (ум. од. св.) [13].

Статистичний аналіз проводили з використанням пакетів програм Statistica 6.0 та Microsoft Excel

2003. Для порівняння параметрів застосовували непараметричні методи (U-критерій Манна-Уїтні, критерій Краскала-Уолліса). Достовірність відмінностей між середніми значеннями показників приймалася лише на рівні $p < 0,05$. Проведено кореляційний аналіз отриманих результатів, щоб визначити напрямок та силу взаємозв'язку між оціночними значеннями.

Проведені наукові дослідження відповідають морально-етичним принципам Гельсінської декларації, прийнятої Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації (1964-2000 рр.), Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (1997 р.), відповідним положенням ВООЗ та законам України.

Результати дослідження та їх обговорення. У досліджуваних групах при мікроскопічному дослідженні плодів оболонки амніон візуалізувався у вигляді тонкої безсудинної мембрани, у складі якої визначався епітеліальний шар та зовнішній шар амніотичної мезодерми. Амніотичний епітелій був представлений однорядним безперервним шаром кубічної або сплющеної форми клітин з округлим помірно базофільним ядром і слабко базофільною цитоплазмою. Амніотичний епітелій лежав на тонкій базальній мембрані, яка відділяла його від амніотичної мезодерми, у складі якої візуалізувався компактний безклітинний шар, шар пухко розташованих фібробластів та губчастий шар. При забарвленні за Ван Гізоном у всіх шарах мезодерми визначалися фуксинофільні колагенові волокна, в компактному шарі вони щільно прилягали один до одного, в шарі фібробластів і губчастому шарі розташовувалися пухко. Зі збільшенням терміну гестації у клінічних групах відзначалося посилення фуксинофільії колагенових волокон. У клінічних групах з ХА амніон був осередково-дифузно інфільтрований поліморфно-ядерними лейкоцитами.

У всіх клінічних групах та КГ під час імуногістохімічної реакції з МКА до цитокератину в клітинах амніотичного епітелію визначалася цитокератин-позитивна реакція у вигляді забарвлення цитоплазми у коричневий колір. У групах з доношеною ускладненою вагітністю та КГ зустрічалися групи клітин зі слабко вираженою цитокератин-позитивною реак-

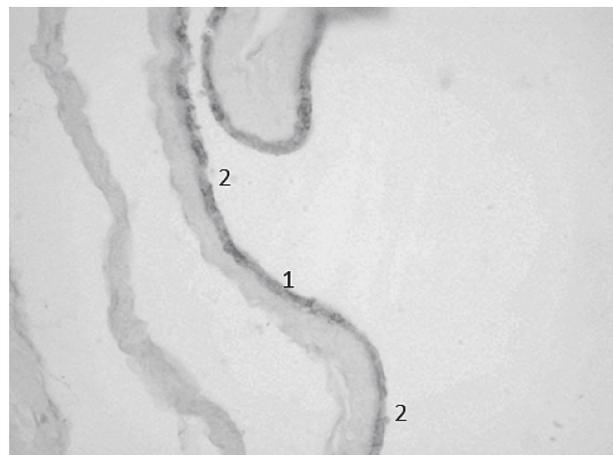


Рисунок 1 – Експресія цитокератину в цитоплазмі клітин амніотичного епітелію (1). Окремі цитокератину-негативні клітини (2). КГ. ІГХ реакція з МКА до цитокератину. 36.: x400.

Таблиця – Значення морфометричних показників імуногістохімічних реакцій у клінічних та контрольній групах (M±m)

Група	Рівень експресії цитокератину клітинами амніотичного епітелію, ум. од.	Рівень експресії колагену I типу у амніотичній мезодермі, ум. од. св.	Рівень експресії колагену III типу у амніотичній мезодермі, ум. од. св.
ПЕН (n=8)	0,267±0,013#	0,636±0,021#	0,684±0,022#
ПЕД (n=8)	0,171±0,005*#	0,730±0,013*#	0,688±0,014*#
АН (n=8)	0,353±0,012#	0,637±0,0042#	0,658±0,022#
АД (n=8)	0,194±0,005*#	0,764±0,015*#	0,736±0,020*#
ХАН (n=10)	0,239±0,012#	0,597±0,023#	0,615±0,018#
ХАД (n=16)	0,149±0,009*#	0,667±0,025*#	0,637±0,042*#
КГ (n=8)	0,203±0,009	0,849±0,014	0,826±0,023

Примітка: * – значимість відмінностей між групами з недоношеною і доношеною вагітністю у разі аналогічної патології, p<0,05; # – значимість відмінностей порівняно з КГ, p<0,05.

цією, в окремих клітинах та/або їх групах ІГХ реакція мала негативний характер (рис. 1).

При морфометричному визначенні в досліджуваних групах рівня експресії цитокератину клітинами амніотичного епітелію середнє значення маркера змінювалося залежно від терміну гестації та ускладнення вагітності (табл.). У клінічних групах з доношеною вагітністю рівень експресії цитокератину статистично значуще знижувався порівняно з показником у групах з аналогічною патологією вагітності та мертвонародженням у терміні 30-35 тижнів. У групах з недоношеною вагітністю рівень експресії цитокератину був достовірно вищим за показник у КГ, у разі доношеної вагітності рівень експресії цитокератину у групах ПЕД та ХАД був достовірно нижчим, а у групі АД статистично значимо не відрізнявся від показника у КГ.

За результатами ІГХ реакції з МКА до віментину в усіх групах виявлялася експресія маркера в цитоплазмі клітин шару фібробластів амніотичної мезодерми. У групах з недоношеною вагітністю цитоплазма клітин амніотичного епітелію була віментин-негативною, а в групах з доношеною ускладненою вагітністю та КГ зустрічалися окремі клітини та/або їх групи з віментин-позитивною реакцією (рис. 2).

При ІГХ дослідженні розподілу колагенів у всіх клінічних групах та КГ у компактному шарі, шарі фібробластів та губчастому шарі амніону виявлялися інтерстиціальні колагени I, III типів (рис. 3-4). Колаген IV типу візуалізувався у базальній мембрані амніотичного епітелію. У групах ПЕН, АН, ХАН та КГ характер імунофлюоресценції був безперервним, у групах ПЕД, АД та ХАД – переривчастим. В останніх групах імуногістохімічно у складі базальної мембрани також типувався колаген III типу у вигляді дрібно-гранулярного неяскравого світіння.

Згідно з даними таблиці, у всіх клінічних групах з недоношеною вагітністю рівні експресії маркерів колагенів I та III типів в амніотичній мезодермі були достовірно нижчими порівняно зі значеннями цих показників в аналогічних групах з доношеною вагітністю та КГ. У групах ПЕД, АД і ХАД рівні експресії обох типів колагенів були також статистично значуще нижче за аналогічні показники в КГ, причому найменші значення рівня світіння колагенів I і III типів реєструвалися у групах з хоріоамніонітом.

Кореляційний аналіз показав, що у групах ПЕД, АД, ХАД та КГ є міцний позитивний взаємозв'язок між рівнем експресії цитокератину в епітеліюцитах амніону та відповідними рівнями експресії колагену I та III типів в амніотичній мезодермі. У групі ПЕД коефіцієнти кореляції склали r=0,95 (p=0,0002) та r=0,73 (p=0,033) відповідно, у групі АД – r=0,91 (p=0,0007) та r=0,88 (p=0,020) відповідно, у групі ХАД – r=0,87 (p=0,008) та r=0,93 (p=0,001) відповідно і в КГ – r=0,97 (p=0,00005) та r=0,83 (p=0,008) відповідно. У групах з недоношеною вагітністю взаємозв'язок між показниками, що вивчаються, мав різноспрямований характер і не був статистично значущим.

Аналіз результатів проведеного дослідження показав, що у клінічних групах зі збільшенням терміну гестації в амніотичному епітелії спостерігається зниження інтенсивності експресії маркера епітеліальних клітин цитокератину, а в окремих клітинах та/або їх групах виявляється позитивна реакція з МКА до віментину, який є маркером мезенхімальних клітин. Отримані дані свідчать про наявність епіте-

Аналіз результатів проведеного дослідження показав, що у клінічних групах зі збільшенням терміну гестації в амніотичному епітелії спостерігається зниження інтенсивності експресії маркера епітеліальних клітин цитокератину, а в окремих клітинах та/або їх групах виявляється позитивна реакція з МКА до віментину, який є маркером мезенхімальних клітин. Отримані дані свідчать про наявність епіте-

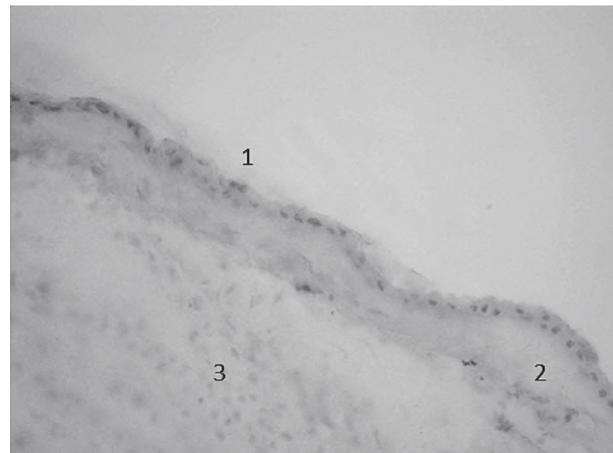


Рисунок 2 – Експресія віментину в цитоплазмі окремих клітин амніотичного епітелію (1) та фібробластах амніотичної мезодерми (2). Лейкоцитарна інфільтрація амніону (3). Група ХАД. ІГХ реакція з МКА до віментину. 36.: x100.



Рисунок 3 – Інтенсивне світіння колагену I типу в амніотичній мезодермі (1). КГ. Непрямий метод Кунса з МКА до колагену I типу. 36.: x100.

ліально-мезенхіальної трансформації амніотичного епітелію, який здійснюється на пізніх термінах гестації, що узгоджується з даними інших дослідників [11]. За нашими даними, інтенсифікації ЕМТ сприяє наявність у жінок ускладнень вагітності, насамперед запальних процесів у фетальних мембранах, що зазначають зарубіжні автори [14].

Ми отримали дані про те, що зі збільшенням терміну гестації у клінічних групах спостерігається посилення рівня експресії інтерстиціальних колагенів I та III типів в амніотичній мезодермі, це відображує нормальний процес їхнього старіння, на що вказують і у зарубіжних дослідженнях [3].

До того ж, у групах ПЕД, АД та ХАД порівняно з КГ спостерігалось достовірне зниження вмісту інтерстиціальних колагенів. Вочевидь, це пов'язано з тим, що з ускладненням вагітності інтенсифікація набутих амніотичним епітелієм властивостей мезенхімальних клітин з колагенолітичною активністю призводить до посилення деградації колагену амніотичної мезодерми та підвищує ризик ПРПО. Останнє підтверджується наявністю міцного позитивного взаємозв'язку між рівнем експресії цитокератину в епітеліоцитах амніону та відповідними рівнями експресії колагену I та III типів в амніотичній мезодермі у контрольній та клінічних групах із доношеною вагітністю.

Висновки. Таким чином, в результаті проведеного дослідження отримані дані щодо епітеліально-мезенхімальної трансформації амніотичного епітелію з набуттям ним колагенолітичних властивостей, що посилюються з ускладненням вагітності пре-

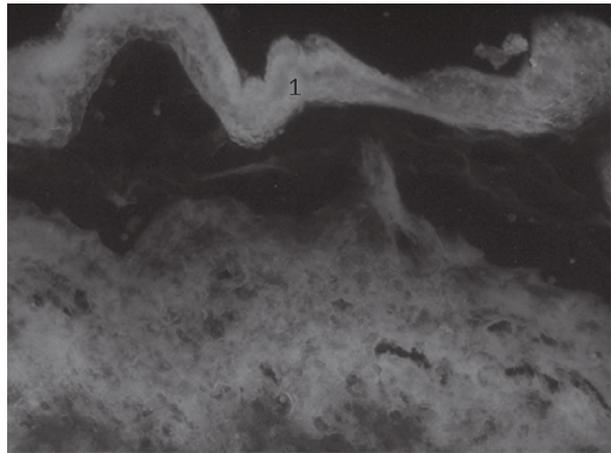


Рисунок 4 – Помірне світління колагену I типу в амніотичній мезодермі. Група ХАД. Непрямий метод Кунса з МКА до колагену I типу. 36.: x100.

еклампсією, залізодофіцитною анемією та гострим хоріоамніонітом, і це може сприяти передчасному розриву плодових оболонок. Отримані результати будуть корисними для подальшого вивчення механізму передчасного розриву плодових оболонок у разі ускладненої вагітності, а також профілактики пов'язаних з цим наслідків у матері та плода.

Перспективи подальших досліджень. У подальшому поглиблене вивчення розподілу та вмісту інтерстиціальних колагенів у хоріоні та децидуа дозволить розширити розуміння процесів ремоделювання фетальних мембран при фізіологічній та ускладненій вагітності.

Література

- Menon R. Human fetal membranes at term: Dead tissue or signalers of parturition? *Placenta*. 2016;44:1-5. DOI: 10.1016/j.placenta.2016.05.013.
- Marpaung J. Association between the thickness of the collagen in the amniotic membrane with the incidence of premature rupture of membranes. *Int J Reprod Contracept Obstet Gynecol* 2016;5:296-9. DOI: <http://dx.doi.org/10.18203/2320-1770.ijrcog20160359>.
- Menon R, Behnia F, Polettini J, Saade GR, Campisi J, Velarde M. Placental membrane aging and HMGB1 signaling associated with human parturition. *Aging (Albany NY)*. 2016 Feb;8(2):216-30. DOI: 10.18632/aging.100891.
- Dars S, Malik S, Samreen I, Kazi RA. Maternal morbidity and perinatal outcome in preterm premature rupture of membranes before 37 weeks gestation. *Pak J Med Sci*. 2014;30(3):626-9. DOI: 10.12669/pjms.303.4853.
- Hoxha AN, Cnota W, Czuba B, Ruci A, Jarno MC, Jagielska A, et al. A retrospective study on the risk of respiratory distress syndrome in singleton pregnancies with preterm premature rupture of membranes between 24+0 and 36+6 Weeks, using regression analysis for various factors. *Biomed Res Int*. 2018;2018:1-6.].
- Tosheva II, Ikhtiyarova GA. Iskhody beremennosti pri prezhdevremennom razryve plodnykh obolochek. *RMZH. Mat' i ditya*. 2020;3(1):16-19. DOI: 10.32364/2618-8430-2020-3-1-16-19. [in Russian].
- Davies EL, Bell JS, Bhattacharya S. Preeclampsia and preterm delivery: A population-based case-control study. *Hypertens Pregnancy*. 2016 Nov;35(4):510-519. DOI: 10.1080/10641955.2016.1190846.
- Rasmussen S, Ebbing C, Irgens LM. Predicting preeclampsia from a history of preterm birth. *PLoS ONE*. 2017;12(7):e0181016. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181016>.
- Kuznetsova NB, Bushyryeva IO, Dybova VS, Barinova VV, Dmitriyeva MP. Etiologiya i patogenez prezhdevremennogo razryva plodnykh obolochek pri nedonoshennoy beremennosti. *Vestnik Natsional'nogo mediko-khirurgicheskogo Tsentra im. N.I. Pirogova* 2019;14(4):57-61. DOI: 10.25881/BPNMSC.2020.32.74.012. [in Russian].
- Xu P, Alfaidy N, Challis JR. Expression of matrix metalloproteinase (MMP)-2 and MMP-9 in human placenta and fetal membranes in relation to preterm and term labor. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002 Mar;87(3):1353-61. DOI: 10.1210/jcem.87.3.8320.
- Janzen C, Sen S, Margarida YY, Lei MYY. The role of epithelial to mesenchymal transition in human amniotic membrane rupture. *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 2017;102:1261-1269. DOI: <https://doi.org/10.1210/jc.2016-3150>.
- Redline RW, Faye-Petersen O, Heller D, Qureshi F, Savell V, Vogler C, et al. Amniotic infection syndrome: nosology and reproducibility of placental reaction patterns. *Pediatr Dev Pathol*. 2003 Sep-Oct;6(5):435-48. DOI: 10.1007/s10024-003-7070-y.
- Hubina-Vakulyk HI, Sorokina IV, Markovs'kyy VD, Kykhtenko OV, Kupriyanova LS, Sydorenko RV, vynakhidnyky; KHNMU, patentovlasnyk. Sposib kill'kisnogo vyznachennya vmistu antyheny v biolohichnykh tkanyakh. Patent Ukrainy № 46489. 2009 Hrud 25. [in Ukrainian].
- Weed S, Armistead B, Coleman M, Liggit HD, Johnson B, Tsai J, et al. MicroRNA Signature of Epithelial-Mesenchymal Transition in Group B Streptococcal Infection of the Placental Chorioamniotic Membranes. *J Infect Dis*. 2020 Oct 13;222(10):1713-1722. DOI: 10.1093/infdis/jaa280.

ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ АМНІОНУ У ВИПАДКУ УСКЛАДНЕНЬ ВАГІТНОСТІ ТА АНТЕІНТРАНАТАЛЬНОЇ ЗАГИБЕЛІ ПЛОДА**Зац О. С.**

Резюме. Результат вагітності та пологів багато в чому залежить від цілісності фетальних мембран, які забезпечують внутрішньоутробне існування плода. При вагітності на тлі преєклампсії, залізодефіцитної анемії вагітних, гострого хоріоамніоніту збільшує ризик передчасного розриву плодових оболонок, з яким пов'язують 40-75% перинатальних втрат.

Метою дослідження стало визначення імуногістохімічних та морфометричних особливостей епітелію та мезодерми амніону при мертвонародженні у вагітних з преєклампсією, залізодефіцитною анемією та гострим хоріоамніонітом.

Об'єкт і методи дослідження. Досліджено 58 оболонок антеінтранатально загинувших плодів, які були поділені на 6 клінічних груп: оболонки недоношених (n=8) та доношених (n=8) плодів вагітних з преєклампсією, недоношених (n=8) та доношених (n=8) плодів вагітних із залізодефіцитною анемією, недоношених (n=10) та доношених (n=16) плодів із гострим хоріоамніонітом. Контрольну групу склали 8 оболонок при фізіологічній вагітності з народженням живої доношеної дитини. Імуногістохімічну оцінку клітинного складу амніону виявляли за експресією маркера епітеліальних клітин цитокератину (Cytokeratin PAN AE1/AE3), маркера мезенхімальних клітин виментину (Vimentin V9), за допомогою МКА до колагенів I, III, IV типів виявляли інтерстиційні колагени. Визначали рівні експресії цитокератину в амніотичному епітелії, колагенів I, III типів в амніотичній мезодермі. Мікропрепарати досліджували у мікроскопі Olympus BX-41 (Японія). Статистичну обробку проводили за допомогою програмного пакету Statistica 6.0 та Microsoft Excel 2003. Для порівняння параметрів використовували непараметричні методи (U-критерій Манна-Уїтні). З отриманими результатами проведено кореляційний аналіз між оціночними значеннями з визначенням напрямку і сили зв'язку.

Результати. Аналіз проведених імуногістохімічних реакцій виявив в фетальних мембранах при фізіологічній вагітності та вагітності, що була ускладнена преєклампсією, хоріоамніонітом і залізодефіцитною анемією вагітних, ознаки епітеліально-мезенхімальної трансформації амніотичного епітелію, які наростали зі збільшенням терміну гестації і характеризувалися зниженням експресії цитокератину і появою виментин-позитивних клітин. У контрольній групі з фізіологічною вагітністю та у клінічних групах з доношеною вагітністю встановлено сильний позитивний кореляційний зв'язок між рівнем експресії цитокератину амніотичним епітелієм і рівнями експресії інтерстиційних колагенів I і III типів в амніотичній мезодермі ($p < 0,5$ для всіх груп), що обумовлено придбанням амніотичним епітелієм властивостей мезенхімальних клітин з колагенолітичною активністю.

Висновки. В результаті проведеного дослідження отримано данні щодо епітеліально-мезенхімальної трансформації амніотичного епітелію з набуттям їм колагенолітичних властивостей, що посилюються при ускладненні вагітності преєклампсією, залізодефіцитною анемією та гострим хоріоамніонітом. Отримані дані можуть бути корисні для подальшого вивчення механізму передчасного розриву навколоплідних оболонок при ускладненій вагітності і профілактики пов'язаних з ним ускладнень з боку матері та плоду.

Ключові слова: преєклампсія, анемія, хоріоамніоніт, плодові оболонки, імуногістохімія.

IMMUNOGISTOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF AMNION IN CASE OF COMPLICATIONS OF PREGNANCY AND ANTEINTRANATAL FETAL DEATH**Zats O. S.**

Abstract. The outcome of pregnancy and childbirth largely depends on the integrity of the fetal membranes that ensure the fetal existence. During pregnancy on the background of preeclampsia, iron deficiency anemia in pregnant women, acute chorioamnionitis increases the risk of premature rupture of membranes, which is associated with 40-75% of perinatal losses.

The aim of the study was to determine the immunohistochemical and morphometric features of the epithelium and mesoderm of the amnion at stillbirth in pregnant women with preeclampsia, iron deficiency anemia and acute chorioamnionitis.

Object and methods of research. 58 membranes of ante-intranatally dead fetuses were studied, which were divided into 6 clinical groups: membranes of premature (n = 8) and full-term (n = 8) fetuses of pregnant women with preeclampsia, premature (n = 8) and full-term (n = 8) fetuses pregnant women with iron deficiency anemia, premature (n = 10) and full-term (n = 16) fetuses with acute chorioamnionitis. The control group consisted of 8 shells during physiological pregnancy with the birth of a live full-term baby. Immunohistochemical evaluation of the cellular composition of the amnion was detected by the expression of the marker of epithelial cells of cytokeratin (Cytokeratin PAN AE1/AE3), the marker of mesenchymal cells of vimentin (Vimentin V9), using MCA to collagen types I, III, IV detected interstitial. Levels of expression of cytokeratin in amniotic epithelium, collagen I, III types in amniotic mesoderm were determined. The micropreparations were examined in an Olympus BX-41 microscope (Japan). Statistical processing was performed using the software package Statistica 6.0 and Microsoft Excel 2003. To compare the parameters used non-parametric methods (U-test Mann-Whitney). With the obtained results, a correlation analysis was performed between the estimated values to determine the direction and strength of the connection.

Results. Analysis of immunohistochemical reactions revealed in fetal membranes in physiological pregnancy and pregnancy complicated by preeclampsia, chorioamnionitis and iron deficiency anemia in pregnant women, signs of epithelial-mesenchymal transformation of amniotic epithelium, which were characterized by increased . In the control group with physiological pregnancy and in clinical groups with full-term pregnancy, a strong positive

correlation was found between the level of cytokeratin expression by the amniotic epithelium and the expression levels of interstitial collagen types I and III in the amniotic mesoderm ($p < 0.5$ for all groups). due to the acquisition of the amniotic epithelium properties of mesechymal cells with collagenolytic activity.

Conclusions. As a result of the study, data were obtained on the epithelial-mesenchymal transformation of the amniotic epithelium with the acquisition of collagenolytic properties, which are exacerbated by complications of pregnancy with preeclampsia, iron deficiency anemia and acute chorioamnionitis. The obtained data may be useful for further study of the mechanism of premature rupture of amniotic membranes in complicated pregnancy and prevention of related complications from the mother and fetus.

Key words: preeclampsia, anemia, chorioamnionitis, fetal membranes, immunohistochemistry.

ORCID автора та його внесок до статті:

Zats O.S.: 0000-0003-4005-4428 ^{ABCDEF}

Адреса для кореспонденції

Зац Ольга Сергіївна

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна

Адреса: Україна, 61000, м Харків, пр-т Незалежності 6

Тел.: +380673993311

E-mail: olgse@ukr.net

A – концепція роботи та дизайн, **B** – збір та аналіз даних, **C** – відповідальність за статичний аналіз, **D** – написання статті, **E** – критичний огляд, **F** – остаточне затвердження статті.

Рецензент – проф. Єрошенко Г. А.
Стаття надійшла 04.05.2021 року
Стаття прийнята до друку 09.11.2021 року