
МОРФОЛОГИЯ И ПАТОМОРФОЛОГИЯ

ПРИМЕНЕНИЕ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ В КОМПЛЕКСНОЙ ОЦЕНКЕ СИСТЕМЫ "МАТЬ-ПЛАЦЕНТА-ПЛОД" ПРИ АКУШЕРСКОЙ И ЭНДОКРИННОЙ ПАТОЛОГИИ НА ФОНЕ БЕРЕМЕННОСТИ

Т.В.Павлова¹, А.И.Щёголев², А.Н.Каплин³,
Е.С.Малютина¹, А.В.Селиванова¹, Л.О.Землянская¹

¹ФГАОУ ВО Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, РФ; ²ФГБУ НМИЦ акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И.Кулакова Минздрава России, Москва; ³ФГБОУ ВО Курский государственный медицинский университет Минздрава России, Курск

В практическом здравоохранении атомно-силовая микроскопия не особо популярна, поэтому возможности её использования изучены недостаточно, например, в акушерстве при исследовании системы "мать-плацента-плод". В нашем исследовании отражены возможности применения атомно-силовой микроскопии для обнаружения различных нарушений кровообращения и сосудистых изменений на микроскопическом уровне в матке (эндометрии и миометрии), плаценте, пуповине при основных вариантах акушерской и эндокринной патологии. Так, при эндокринных патологиях у матери были обнаружены изменения в виде стаза, "сладжа", диапедеза, ишемии, деструкции и разобщения эндотелиоцитов сосудов ворсин. Содержание кислорода в эритроцитах также закономерно уменьшалось при патологиях, наблюдался пойкило- и анизоцитоз.

Ключевые слова: сканирующая микроскопия; акушерство; плацента; матка

Современные методы исследований биологических материалов можно условно разделить на две основные группы: химические и микроскопические [7]. Возможности растровой сканирующей электронной микроскопии (РЭМ) позволяют объединить их воедино [4], изучить микроскопическую структуру тканей с переходом на молекулярный уровень. РЭМ применяется и в научной, и в практической деятельности врачей и биологов разных специальностей [2]: клинично-лабораторная гематология, иммунология, микробиология (бактериология, мико-

логия, вирусология), цитология, молекулярная биология и диагностическая генетика. РЭМ также позволяет изучать репродуктивные функции человека [1] в норме и при патологии. Данный метод позволяет не только рассмотреть клеточные элементы при значительных увеличениях, но и точно изучить их состав элементов [8]. Кроме этого, исследуется трёхмерное изображение ткани [6], что в большей степени позволяет оценить структурное взаимоотношение элементов. Возможность исследования нативного материала позволяет на ином структурном уровне изучать компоненты системы "мать-плацента-плод" при патологии беременности [3,5].

Цель нашего исследования — изучить возможности использования РЭМ (с применением элементного анализа) в изучении системы

Адрес для корреспонденции: drkaplin46@gmail.com. Каплин А.Н.

doi: 10.47056/0365-9615-2021-171-2-223-227

"мать-плацента-плод": матки (эндометрий и миометрий), эритроцитов крови, плаценты и пуповины при разных вариантах акушерской и эндокринной патологии.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования выполнены на кафедре патологии Белгородского государственного национального исследовательского университета. Проводили обследование беременных 25-35 лет с заболеваниями щитовидной железы: с гипотиреозом (послеоперационный, аутоиммунный тиреоидит; $N=15$); с гипертиреозом (диффузный токсический зоб (ДТЗ) в стадии компенсации; $N=10$); с эутиреоидным состоянием (гипертрофия щитовидной железы 1-й и 2-й степени, смешанный зоб; $N=17$). Также в исследовании участвовали пациентки с сахарным диабетом 1-го типа (СД1; $N=10$), гестационным СД (ГСД; $N=10$); беременные с преэклампсией средней степени тяжести ($N=10$). Группу сравнения составили беременные ($N=5$) без эндокринопатий и акушерской патологии. Роды у всех обследуемых женщин осуществлялись путём проведения операции абдоминального кесарева сечения на сроке 38-40 нед. В ходе исследования были использованы общеклинические, радиоиммунологические, инструментальные методы исследования. Клинические данные о пациентках были получены при изучении амбулаторных карт беременных, историй родов, анамнеза жизни. Проводили клинические анализы крови и мочи, биохимический анализ крови. Функции щитовидной железы оценивали по уровню тиреотропного гормона, общего и свободного Т4 и Т3, антитела к тиреопероксидазе и тиреоглобулину определяли с использованием набора реагентов для радиоиммунного анализа тиреотропной группы.

Для определения тканевых изменений брали фрагменты плаценты, пуповины и матки (миометрий и эндометрий). Макроскопическое описание последов проводили путём определения формы, размеров, массы плаценты, состояния амниона, патологических изменений плацентарной ткани, состояния базальной пластинки, децидуальной оболочки и состояние пуповины (место прикрепления, размеры, количество сосудов). Образцы изучали без дополнительной обработки при помощи растрового сканирующего электронного микроскопа Quanta 600 FEG, интегрированного с детектором рентгеновского излучения для микроанализа (позволяет определить содержания кисло-

рода в тканях) фирмы EРAX (чувствительность метода — 0.1-0.3%).

Также исследовали эритроциты венозной крови матери (кровь брали из медиальной подкожной вены руки накануне родов). Полученные размеры эритроцитов были распределены на 3 группы: микроциты (>6.4 мкм), нормоциты (6.5-8.9 мкм), макроциты (9.0-10.9 мкм). При описании морфологических характеристик эритроцитарную популяцию распределяли на основные группы: дискоциты; переходные формы (способные к обратной трансформации): эллипсы, дискоциты с гребнем, плоские диски, дискоциты с выростом, дискоциты с множественными выростами, эритроциты в виде "тутовой ягоды"; предгемолитические формы (с изменениями, носящими необратимый характер): куполообразные, сферические, в виде "спущенного мяча"; дегенеративные формы.

Полученные данные статистически обрабатывали в программах Microsoft Excel 2010 и Statistica 10.0 (StatSoft, Inc.), достоверность различий относительных и средних величин определяли с помощью t критерия Стьюдента при $p<0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение пуповины с помощью сканирующей микроскопии при увеличении 50-100 позволяет оценить весь срез органа и выявить изменения в просвете сосудов и сосудистых стенок, их отёк и экссудативно-лейкоцитарные реакции, а также определить состояние вартонова студня.

При большем увеличении были выявлены нарушения кровообращения (рис. 1, а) в виде стаза, "сладжа", диапедеза (гипотиреоз, ГСД, СД1 и ДТЗ), образование фибрина (СД1 и преэклампсии).

Расстояние между складками эндотелиоцитов достоверно ($p<0.05$) увеличивалось в следующей последовательности: 2.9 ± 0.3 мкм при эутиреозе; 3.1 ± 0.3 мкм при ГСД; 3.9 ± 0.4 мкм при гипотиреозе; 4.3 ± 0.8 мкм при преэклампсии, 4.5 ± 1.5 мкм при ДТЗ и 4.6 ± 1.4 мкм при СД1 (в контроле — 2.0 ± 0.5 мкм). Также обнаружено образование складок на люминальной поверхности эндотелиоцитов с нарушением строения стыков между клетками эндотелия.

Обзорно изучены фрагменты ворсинчатого хориона вместе с материнской и плодной поверхностью, в пределах 3-5 котиледонов (увеличение 50-250). Был выявлен мозаичный характер изменений во фрагментах материнской и плодной поверхности при акушерской и эндо-

кринной патологии, выразившихся в нарушениях кровообращения в виде неравномерного кровенаполнения, очаговых кровоизлияний и тромбозов в межворсинчатых пространствах, строме ворсин и просвете их сосудов; склерозе стромы стволовых и промежуточных ворсин; единичных, а в некоторых случаях, и множественных петрификатах в строме ворсин разного порядка, которые ещё в большей степени были выражены при их сочетании (рис. 2).

В отличие от контрольной группы при эндокринной патологии и преэклампсии определялись инфаркты в плаценте, также отмечалось тромбообразование в межворсинчатом пространстве плаценты (МВП). Отложение солей кальция в МВП было характерно для преэклампсии и СД1, при гипотиреозе ткань была ишемична и склерозирована. При всех видах изученной патологии уменьшался порядок ветвления ворсин, определялся дефицит терми-

нальных ворсин наряду с афункциональными зонами, образованными зрелыми промежуточными ворсинами хориона. Стенки сосудов стволовых и "якорных" ворсин нередко были утолщены и склерозированы, а их просвет сужен. Неизменная часть сосудов стволовых ворсин достоверно уменьшалась в следующей последовательности: 35.6 ± 3.7 мкм при гипертрофии щитовидной железы 1-2-й степени и смешанном зобе; 32.1 ± 2.6 мкм при ГСД; 12.6 ± 1.9 мкм при послеоперационном гипотиреозе, аутоиммунном тиреоидите; 11.2 ± 1.4 мкм при СД1; 10.3 ± 1.6 мкм при ДТЗ и 9.3 ± 1.5 мкм при преэклампсии (в контроле — 28.0 ± 2.4 мкм). Тенденция к уменьшению неизменной части сосудов в той же последовательности была характерна и для терминального отдела.

Во всех группах наблюдались изменения ворсин, преобладание ворсин промежуточного типа с резким уменьшением количества боковых

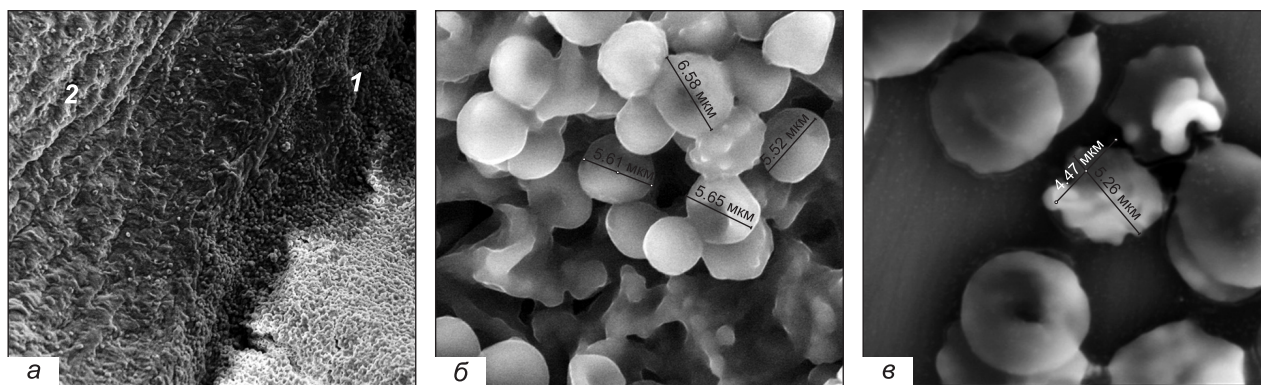


Рис. 1. Полнокровие и стаз внутри пупочной вены при преэклампсии (а); эритроциты в МВП плаценты: изменение формы части клеток (б); эритроциты в венозной крови матери (в). РЭМ, $\times 600$ (а), $\times 4000$ (б), $\times 12\ 000$ (в). 1 — элементный состав в эритроцитах сосудов пуповины, 2 — эритроциты МВП.

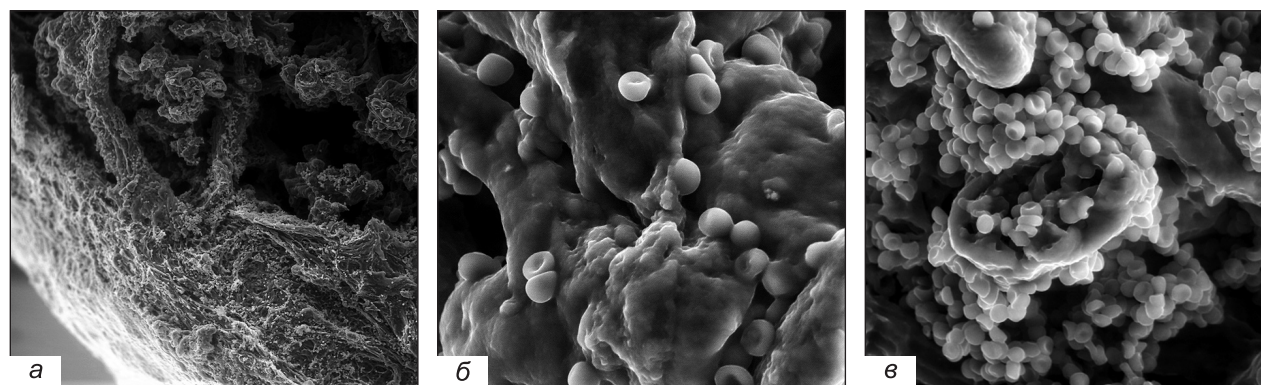


Рис. 2. Фрагменты ворсинчатого хориона в контрольной группе (а, б) и у пациентки с преэклампсией (в). РЭМ, $\times 250$ (а), $\times 4000$ (б), $\times 2000$ (в). б — увеличенный фрагмент а.

ветвей. Так, длина ворсин промежуточного типа у пациенток с эутиреоидным состоянием составляла 460 ± 36 мкм, с гипотиреозом — 690 ± 48 мкм, с ДТЗ — 720 ± 55 мкм, с ГСД — 420 ± 42 мкм, с СД1 — 730 ± 95 мкм; с преэклампсией — 710 ± 101 мкм (в контроле — 300 ± 30 мкм). Кроме того, обнаружено нарушение строения микроворсинок, вплоть до десквамации.

Установлено достоверное уменьшение эритроцитов в сосудах ворсинчатого хориона: при эутиреозе — $76.0 \pm 1.5\%$; при гипотиреозе — до $67.0 \pm 1.9\%$; при ДТЗ — до $65.0 \pm 1.3\%$; при ГСД — до $70.0 \pm 4.5\%$; при СД1 — до $60.0 \pm 3.8\%$; при преэклампсии — до $63.0 \pm 3.3\%$ (в контроле — $85.0 \pm 1.6\%$). При сочетании эндокринопатии у матери (СД1, ДТЗ) с преэклампсией их число не превышало $53.0 \pm 2.3\%$. Средний размер эритроцитов в ворсинчатом дереве был несколько меньше, чем в МВП. Среди изменённых эритроцитов часто наблюдались клетки в форме неправильного овала, вытянутые, реже встречались эхиноциты и дегенеративные формы (рис. 1, б). Отдельные клетки крови были соединены между собой, а также с эндотелиоцитами цитоплазматическими мостиками и нитями фибрина (в наибольшей степени при СД1 и преэклампсии), при СД1 и ДТЗ происходило изменение плазматических мембран клеток.

Форма спиральных артерий миометрия при патологии щитовидной железы у матери, гипотиреозе, ДТЗ, СД1 и преэклампсии была изменена (рис. 3). У пациенток опытных групп эндотелиоциты были более плоскими и тонкими, высота эндотелиоцитов составляла 3.0 ± 0.2 мкм при гипотиреозе, 2.5 ± 0.3 мкм при ДТЗ, 2.3 ± 0.4 мкм при эутиреоидном состоянии, 3.3 ± 0.2 мкм при СД1, 2.5 ± 0.3 мкм при ГСД, 2.6 ± 0.4 мкм при преэклампсии (в контроле — 3.45 ± 0.70 мкм; $p < 0.05$).

В эндометрии и миометрии констатированы значительные изменения формы и строения эритроцитов, их диапедез. Преимущественно в венозном отделе выявлены тромбы, а также нити и пласты фибрина, более часто встречающиеся при СД1, ДТЗ и преэклампсии.

В крови в сосудах (артериях и вене) пуповины, в сосудах ворсин, МВП, эндометрии и спиральных артериях матки достоверно снижалось содержание кислорода в следующей последовательности: эутиреоз, ГСД, гипотиреоз, преэклампсия, ДТЗ, СД1. Однако при разных видах патологии содержание кислорода достоверно не отличалось между этими группами. Так, данный показатель в спиральных артериях составил $27.86 \pm 2.06\%$ при гипотиреозе, $25.11 \pm 2.03\%$ при ДТЗ, $24.10 \pm 1.12\%$ при эутиреоидном состоянии, $23.10 \pm 2.01\%$ при СД1, $23.08 \pm 1.60\%$ при ГСД и $21.06 \pm 2.50\%$ при преэклампсии (в контроле — $34.59 \pm 2.31\%$).

В венозной крови матери при всех видах эндокринной и акушерской патологии содержание нормоцитов было уменьшено по сравнению с макроцитами и особенно — с микроцитами. Так, при эутиреозе, гипо- и гипертиреозе микроциты составляли 19.70 ± 2.01 , 13.25 ± 1.08 и $12.06 \pm 1.07\%$, при ГСД — $19.51 \pm 2.03\%$, при СД1 — $12.45 \pm 2.50\%$, при преэклампсии — $20.35 \pm 2.90\%$ (в контроле — $16.30 \pm 2.03\%$; $p < 0.05$). Содержание макроцитов при гипотиреозе составило $11.50 \pm 1.34\%$, $17.45 \pm 1.01\%$ при ДТЗ, $18.30 \pm 1.24\%$ при эутиреоидном состоянии, $17.50 \pm 1.25\%$ при СД1, $20.30 \pm 1.34\%$ при ГСД, $18.60 \pm 1.10\%$ при преэклампсии (в контроле — $15.60 \pm 1.08\%$) ($p < 0.05$).

Уменьшение количества дискоцитов достоверно ($p < 0.05$) увеличивало число переходных форм, что было показательным для ДТЗ ($19.0 \pm 1.5\%$), СД1 ($21.3 \pm 2.4\%$) и преэклампсии

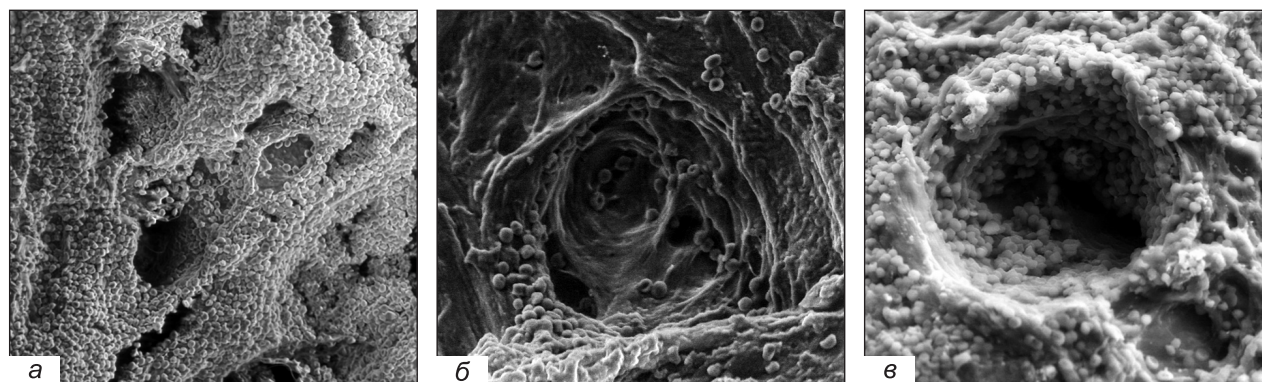


Рис. 3. Фрагменты матки женщин контрольной группы (а, б) и при ДТЗ (в): эндометрий (а), миометрий (б, в) (спиральные артерии). РЭМ, $\times 1000$ (а), $\times 2000$ (б), $\times 1500$ (в).

($18.5 \pm 1.3\%$) (в контроле — $11 \pm 2\%$). Относительное содержание предгемолитических форм в указанных группах составило 4.5 ± 0.8 , 5.8 ± 0.9 , $6.2 \pm 1.1\%$ соответственно (в контроле — $0.2 \pm 0.1\%$), а дегенеративных — 5.4 ± 0.8 , 6.2 ± 0.9 , $6.5 \pm 1.0\%$ соответственно (в контроле — $0.2 \pm 0.1\%$) ($p < 0.05$; рис. 1, в).

Благодаря большой глубине обзора сканирующая электронная микроскопия позволяет изучать поверхности тканей без необходимости применения сложных методов подготовки. При достаточном количестве образцов плацентарной ткани, а также тканей матки, изученных с помощью данного метода микроскопии, можно составить обширную базу характерных изменений для той или иной патологии в системе "мать-плацента-плод", что позволит открыть новые возможности экспресс-диагностики состояния структуры и биохимических параметров маточной и плацентарной ткани для достаточно точной предварительной идентификации патологических изменения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Древаль А.В. Репродуктивная эндокринология: руководство для врачей. Москва, 2019.
2. Павлова Т.В., Куликовский В.Ф., Павлова Л.Л. Клиническая и экспериментальная морфология. Москва, 2016.
3. Павлова Т.В., Малютина Е.С., Петрухин В.А. Патоморфологические особенности системы мать-плацента-плод при диффузном токсическом зобе // Арх. патол. 2015. Т. 77, № 5. С. 14-17.
4. Павлова Т.В., Петрухин В.А., Малютина Е.С., Каплин А.Н., Землянская Л.О. Новое в изучении клинико-морфологических аспектов при эндокринопатиях у беременных // Рос. вестн. акушера-гинеколога. 2020. Т. 20, № 5. С. 13-20.
5. Павлова Т.В., Петрухин В.А., Сумин С.А., Селиванова А.В., Сырцева И.С. Гемореологические особенности маточно-плацентарного кровотока при тяжелом гестозе // Арх. патол. 2014. Т. 76, № 3. С. 37-40.
6. Bobiński R., Pielesz A., Waksmańska W., Sarna E., Ulman-Włodarz I., Kania J., Mikulska M., Turbiarz A. Surface structure changes of pathological placenta tissue observed using scanning electron microscopy - a pilot study // Acta Biochim. Pol. 2017. Vol. 64, N 3. P. 533-535. doi: 10.18388/abp.2017_1528
7. Pavlova T.V., Petruhin B.A., Syrtseva I.S., Selivanova A.V., Markovskaya V.A. Modern approaches to the study of erythrocytes of pre-eclampsia in the mother-placenta-fetus // J. Pharm. Res. 2017. Vol 11, N 12. P. 1575-1578.
8. Scanning Microscopy for Nanotechnology: Techniques and Applications / Eds. W.Zhou, Z.L.Wang. Springer, 2007.

Получено 10.07.20