



УДК 618.3-06.616.441

МЕТОДЫ СКАНИРУЮЩЕЙ МИКРОСКОПИИ ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ СТРУКТУРЫ МАТКИ И ПЛАЦЕНТЫ

Е.А.МАЛЮТИНА¹
Т.В.ПАВЛОВА¹
В.А.ПЕТРУХИН²

*¹Белгородский
государственный
национальный
исследовательский
университет*

*²I акушерская клиника
Московского областного
научно-исследовательского
института акушерства
и гинекологии*

e-mail: pavlova@bsu.edu.ru

Применение как электронной, так и атомносиловой сканирующей микроскопии делает возможным использовать более широкие морфометрические характеристики. Современные подходы предполагают использовать не только фиксированный, но и нативный материал, что не только приближает его к живому объекту, но и открывает возможности для экспресс-диагностики. Применение макро- и микроэлементного анализа позволяет изучить биохимические параметры структуры тканей матки и плаценты для дополнительной диагностики и разработки способов лечения.

Ключевые слова: плацента, гипотиреоз, сканирующая микроскопия.

Изучение последа в норме и при патологии у матери имеет значительную историю [1, 2, 3, 4, 5]. Однако ряд нерешенных вопросов диктует необходимость изучения данной системы с позиций применения новых, инновационных методов исследования [6, 7]. В связи с этим, целью нашей работы явилось изучение маточно-плацентарных взаимодействий при патологии щитовидной железы с применением сканирующей микроскопии.

Материалы и методы. Материалом исследования послужили плаценты женщин с патологией щитовидной железы (ЩЗ) – гипотиреозом (30). 20 плацент женщин без гипотиреоза составили контрольную группу. Во время операции кесарева сечения проводился забор материала для световой, зондовой и электронной микроскопии. Образцы просматривали и фотографировали в световом микроскопе «ТОРИС-Т» СЕТИ (Нидерланды). Для ультрамикроскопического исследования образцы фиксировали в фиксаторе на основе глутаральдегида. Помимо этого, пробы изучали на нефиксированном материале. Материал просматривали под растровым микроскопом «FEI Quanta 200 3D» (Нидерланды-Чехия). В 5 точках ворсинчатого дерева определяли следующие макро- и микроэлементы (углерод, азот, кислород, натрий, магний, фосфор, сера, калий, кальций, фтор, кремний, хлор).

Для зондовой сканирующей микроскопии после предварительного просмотра срезов в световой микроскоп выбирали необходимые парафиновые блоки. После целового просмотра проводили съемку и морфометрический анализ. Помимо этого, изучали объекты, не залитые в парафин и нефиксированные. Атомносиловая микроскопия проведена в режимах постоянного или прерывистого контактов на приборе «Ntegra-Aura» (Компания НТ-МДТ, г. Зеленоград, Россия) с использованием коммерческих Si или SiN кантилеверов (NSG01, NT-MDT, Россия) в условиях атмосферы и низкого вакуума. В качестве подложек использовали слюду (мусковит) или высокоориентированный пиролитический графит (пирографит) для исследования поверхности свежего скола. Обработку и построение АСМ-изображений проводили при помощи программного обеспечения «NOVA» (НТ-МДТ, Россия) и «ImageAnalysis» (НТ-МДТ, Россия).

Результаты исследования. Масса плаценты при гипотиреозе со стандартным лечением составляла $410,31 \pm 45$ г. ($520 \pm 50,0$ г. в контрольной группе). Форма пла-

цент была преимущественно овальная. Площадь, занятая инфарктами, кавернами, занимала до 6-7%. Инфаркты наблюдались в 60% плацент.

Сосуды пуповины в группе были несколько расширены. С помощью атомносиловой микроскопии выявлены изменения микрорельефа эндотелия с образованием выростов плазмолеммы клеток (рис. 1). Размеры эндотелиоцитов составляли от 0,2 до 0,8 μm . Обнаружена сложная система связей между клетками, что характерно как для контрольной группы, так и для плацент женщин с гипотиреозом. При этом размер складок увеличивался и они плотно прилегали друг к другу (рис. 1). Здесь была также выявлена адгезия форменных элементов крови и отложение фибрина. Встречались также участки, в которых ядра клеток эндотелия более, чем в контрольной группе, выступали в просвет сосуда. В 86% плацент в пуповине выявлен стаз, сладж-феномен и тромбоз (рис.1).

При изучении ворсинчатого дерева было показано, что изменения наблюдались во всех его структурных компонентах. При гипотиреозе увеличивалось содержание промежуточных и, наоборот, уменьшалось число терминальных ворсин. Ткань стволых ворсин – склерозирована. Стволовые ворсины поэтому имели внутри незначительный перепад рельефа $-1,4 \pm 0,4 \mu\text{m}$, что хорошо видно при помощи атомносиловой микроскопии. Просвет большинства сосудов был сужен по всей длине и составлял по глубине $1,2 \pm 0,4 \mu\text{m}$. Часто стволовые ворсины были связаны между собой фибрином. Стенки сосудов утолщены и склерозированы, а просвет сужен, что хорошо видно при помощи сканирующей микроскопии. Эндотелиоциты атрофированы. Часть сосудов – ишемична. В 18% сосудов наблюдались тромбы. В других были выявлены эритроциты. Поверхность эндотелия по люминарному краю сглажена. Число складок уменьшено. Расстояние между ними от 1,4 до 2,9 μm (в контрольной группе: $1,3 \pm 0,2 \mu\text{m}$). В отдельных участках определялись фокусы некроза. Именно здесь, чаще всего, и формировались тромбы.

Длина промежуточных ворсин, лишенных терминального отдела, в группе с гипотиреозом составляла $850 \pm 50 \mu\text{m}$ (300 ± 30 в контрольной группе). Перепад рельефа в них еще меньше и составлял $0,8 \pm 0,2 \mu\text{m}$, что достоверно не отличалось от контрольной группы ($0,7 \pm 0,2$).

Терминальные ворсины в части котиледонов – ишемичны, а в других – полнокровны. Содержание полнокровных ворсин невелико ($22, 5 \pm 0,7\%$). Возрастало число фибриноидноизмененных, склерозированных и отечных ворсин. Наблюдалась десквамация синцитиоцитотрофобласта. Перепад рельефа в них составлял ($3,2 \pm 1,6$) $2,6 \pm 0,7$ за счет капилляров.

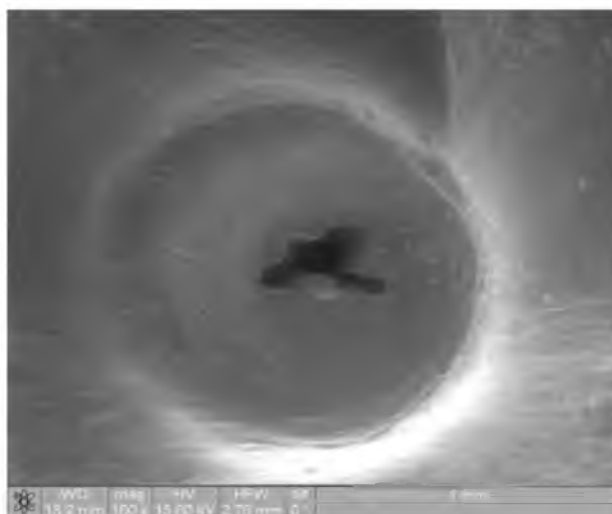


Рис. 1 А. Фрагмент пуповины женщины с гипотиреозом А. РЭМ. Ув 100. Трехмерная гистограмма получена при помощи зондовой сканирующей микроскопии.
Атомносиловая лаборатория

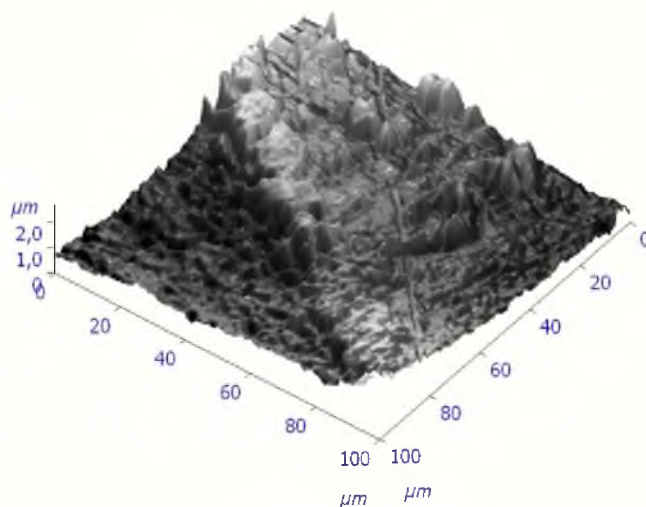


Рис. 1 Б. Фрагмент пуповины женщины с гипотиреозом А. РЭМ. Ув 100. Трехмерная гистограмма получена при помощи зондовой сканирующей микроскопии. Атомносиловая лаборатория

При изучении микроэлементного состава ворсинчатого дерева, полученного при помощи сканирующей электронной микроскопии, нами было показано, что при гипотиреозе в плаценте наблюдалось уменьшение содержания кислорода, натрия, магния, фосфора, калия, кальция, железа (табл. 1).

При изучении миометрия нами было показано увеличение размеров миоцитов во всех группах, характерное для беременности. Особое внимание нами здесь было уделено исследованию сосудистого русла (рис. 2). Так, при описании миометрия женщин при гипотиреозе было видно, что сосуды расширены в большей степени, чем в контрольной группе. Клетки крови наблюдались преимущественно вблизи люминарного края эндотелия. Характерными для данной группы были: стаз, сладж и тромбоз, диапедезные кровоизлияния.

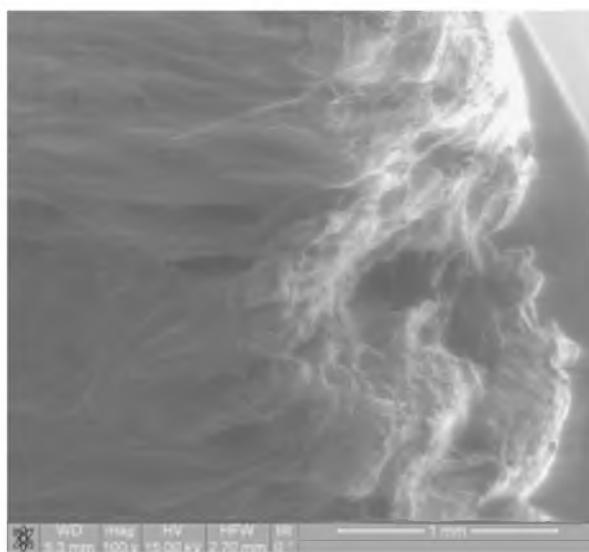


Рис. 2 А. Фрагменты матки женщины с гипотиреозом у матери, полученные при операции кесарево сечение. Фрагментарное расширение сосудов по всей длине миометрия А. РЭМ. Ув.100. Рис. б. Трехмерная гистограмма получена при помощи зондовой сканирующей микроскопии

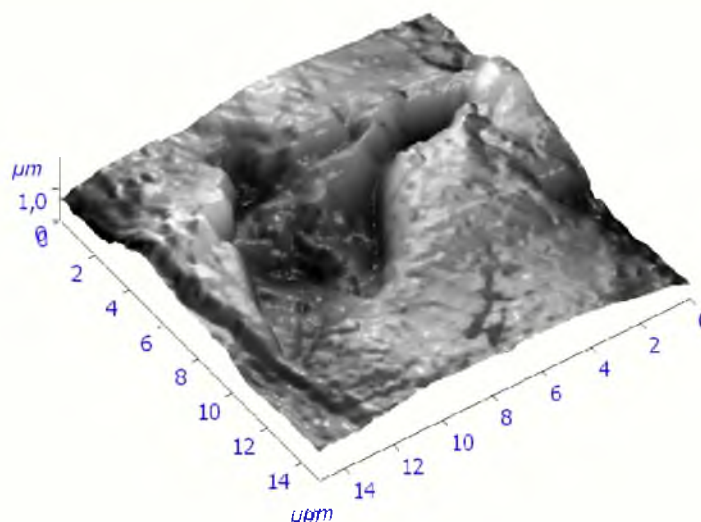


Рис. 2 Б. Фрагменты матки женщины с гипотиреозом у матери, полученные при операции кесарево сечение. Фрагментарное расширение сосудов по всей длине миометрия А. РЭМ. Ув.100. Рис. б. Трехмерная гистограмма получена при помощи зондовой сканирующей микроскопии

Складчатость эндотелия нарушена, при этом поверхность по люминарному краю была ровной. Наблюдались участки с альтеративными процессами (рис. 2). Протяженность сосудов на гистограммах составляла $1,8 \pm 0,4 \mu\text{m}$. Эритроциты чаще были в виде сферы. Часть из них (10-12%) – с нарушенной формой.

Таблица 1

Макро- и микроэлементный состав ворсинчато дерева при гипотиреозе

	Контрольная группа	Гипотиреоз
C	65,6±2,25	73,34±3,02
N	9,67±1,01	9,21±0,65
O	23,29±1,41	16,86±1,05*
Na	0,16±0,02	0,09±0,05*
Mg	0,09±0,02	0,05±0,01*
P	0,55±0,05	0,24±0,02*
S	0,47±0,05	0,28±0,04*
K	0,20±0,01	0,07±0,01*
Ca	0,63±0,05	0,21±0,04*
F	0,10±0,03	0,02±0,01*
Si	0,07±0,02	0,03±0,01*
Cl	0,13±0,04	0,05±0,01*
*p<0,05 по отношению с контрольной группой		

Современные методы предполагают использовать не только фиксированный, но и нативный материал, что не только приближает его к живому объекту, но и открывает возможности для экспресс-диагностики. Применение макро- и микроэлементного анализа позволяет изучить биохимические параметры структуры тканей матки и плаценты для дополнительной диагностики и разработки способов лечения.

Литература

1. Павлова, Т.В. Вопросы эпидемиологии, этиологии, классификации и морфогенеза заболеваний щитовидной железы/ Т.В. Павлова, Д.А. Лапенко / под ред. Т.В. Павловой – Белгород, 2004. – С. 87-113.



2. Павлова, Т.В. Влияние региональных факторов Белгородской области на формирование здоровья населения / Т.В. Павлова [и др.] // Региональные гигиенические проблемы и стратегия охраны здоровья населения. Научные труды Федерального научного центра гигиены Ф.Ф. Эрисмана. – Вып. 10. – М., 2004. – С. 145-147.

3. Павлова, Т.В. Особенности системы мать-плацента-плод при эндокринопатиях / Т.В. Павлова [и др.] // Научные ведомости БелГУ. – 2004. – № 1 (18). – С. 122-125.

4. Павлова, Т.В. Влияние патологии щитовидной железы матери на формирование взаимосвязей в системе мать-плацента-плод / Т.В. Павлова [и др.] // Архив патологии. – 2006. – Т.68., №4. – С. 22-24

5. Павлова, Т.В. Морфология плаценты при беременности на фоне железодефицитной анемии / Т.В. Павлова [и др.] // Архив патологии. – 2007. – Т.69. – №2. – С. 31-32.

METHODS SCANNING MICROSCOPY IN RESEARCH STRUCTURE OF UTERUS AND PLACENTA

E.S. MALUTINA¹

T.V. PAVLOVA¹

V.A. PETRUKHIN²

*¹Belgorod National
Research University*

*²I obstetric clinic
of the Moscow Regional
Scientific Research Institute
of Obstetrics and Gynecology*

e-mail: pavlova@bsu.edu.ru

The application of electron and atomic force scanning microscopy makes possible to use wider morphometric characteristics. Modern methods allow us to use not only fixed but the native material as well, what makes it closer to the living object and open to us the possibility of express diagnostics. The application of macro- and microelement analysis allows us to research biochemical parameters of tissue structure of uterus and placenta for complementary diagnostics and development of treatments.

Keywords: placenta, hypothyroidism, scanning microscopy.