

УДК: 618.36.013.85:612.014.1:618.396
DOI: 10.24061/2413-4260. XIV.1.51.2024.12

ГІСТОХІМІЧНІ ТА ІМУНОГІСТОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ДИФЕРЕНЦІЙОВАНОГО ТРОФОБЛАСТА ХОРІАЛЬНИХ ВОРСИНОК ПЛАЦЕНТИ ПРИ ПЕРЕДЧАСНИХ ПОЛОГАХ

П. Ю. Токар

Буковинський державний медичний університет МОЗ
України (м. Чернівці, Україна)

Резюме

Актуальність вивчення гістохімічних та імуногістохімічних особливостей диференційованого трофобласта хоріальних ворсинок плаценти при передчасних пологах визначається загрозливістю цього стану для матері та плоду, а також його високою поширеністю та серйозними наслідками для здоров'я обох. Уявлення про ушкодження трофобласта хоріальних ворсинок плаценти можуть розширити гістохімічні та імуногістохімічні методи, які дозволяють так чи інакше оцінити концентрацію певних маркерних молекул.

Мета дослідження. Встановити деякі гістохімічні та імуногістохімічні особливості білків трофобласта проміжних та термінальних хоріальних ворсинок плаценти при передчасних пологах.

Матеріал і методи дослідження. Отриманий матеріал (30 плацент при передчасних пологах та 30 плацент при фізіологічній вагітності) фіксували протягом 20-24 годин у 10 %-му нейтральному розчині формаліну, забуференому в фосфатному буфері за Ліллі. Після вирізки тканину плаценти зневоднювали у висхідній батареї етанолу та заливали в парафін-віск при температурі близько 58 °С. На санному мікротомі MC-2 отримували серіями гістологічні зрізи 5,0 мкм завтовшки. Після депарафінізації гістологічні зрізи забарвлювали гематоксиліном і еозином, застосовували гістохімічну методику на загальний білок з бромфеноловим синім за Бонхегом, а також імуногістохімічні методику в відповідності до протоколів, наданих виробником (Dako, Данія). Зокрема, провели імуногістохімічні реакції з моноклональними антитілами до гормону трофобласта – плацентарного лактогену та плацентарної лужної фосфатази. Візуалізацію первинних антитіл здійснювали полімерною системою візуалізації Dako з барвником діамінобензидином (дає коричневе забарвлення місць розташування досліджуваних антигенів).

Окрім описового методу гістопатологічного дослідження виконана комп'ютерна морфометрія цифрових мікрофотографій гістологічних зрізів (мікроскоп Delta Optical Evolution 100 та цифрова камера Olympus SP550UZ). Цифрові копії зображення обробляли за допомогою легітимної копії комп'ютерної програми ImageJ v1.52f, яка розроблена для гістометричних досліджень (National Institutes of Health, США). Зокрема, на цифрових мікрофотографіях оцінку інтенсивності забарвлення (оптичної густини) здійснювали за допомогою методу комп'ютерної мікроденситометрії. Для цього мікрозондовим методом отримували комп'ютерну величину яскравості забарвлення у 8-бітній системі аналізу з 256 градацій сірого – від чорного (0) до білого (255), а потім отримані величини шляхом логарифмічного перетворення (метод натурального логарифму) переводили у величину відносної оптичної густини (в.од.опт.густини). Величина відносної оптичної густини коливається від 0 (абсолютна прозорість об'єкта) до 1 (абсолютна непрозорість об'єкта).

Отримані цифрові дані оброблено методами статистичного аналізу. За допомогою легітимної копії комп'ютерної програми для статистичних обрахунків PAST v4.14 застосовували попередню перевірку на нормальність розподілу за критерієм Shapiro-Wilk. Оскільки щодо вивчених статистичних вибірок згідно з названим критерієм, гіпотеза про нормальність розподілу не відхилялася (при $p=0,05$), то застосовували параметричні методи статистичного аналізу: обрахування величини середньої арифметичної та її похибки, критерій Стюдента (двобічний непарний). Також для надійності висновків використали й непараметричний критерій Mann-Whitney.

Дослідження виконано в межах науково-дослідної роботи «Збереження та відновлення репродуктивного здоров'я жінок та дівчат при акушерській і гінекологічній патології» кафедри акушерства та гінекології Буковинського державного медичного університету (державний реєстраційний номер 0121U110020, термін виконання 2021-2025).

Отримані результати та їх обговорення. Під час мікроскопії гістологічних зрізів, забарвлених гематоксиліном і еозином не виявлено жодних відмінностей у будові трофобласта хоріальних ворсинок плаценти при передчасних пологах у порівнянні з фізіологічною вагітністю. Однак, гістохімічний та імуногістохімічний методи дослідження показали низку особливостей трофобласта хоріальних ворсинок плаценти, на території яких відбуваються основні події щодо обміну речовин – проміжні незрілі, проміжні зрілі, термінальні ворсинки, у тому числі термінальні «спеціалізовані ворсинки».

Висновки. Згідно отриманих гістохімічних та імуногістохімічних даних, при передчасних пологах, у порівнянні з фізіологічною вагітністю, в трофобласті проміжних незрілих ворсинок змін не відмічається, тоді як у проміжних зрілих та термінальних ворсинках спостерігається зниження гістохімічного забарвлення на загальний білок та імуногістохімічного забарвлення на специфічні білки трофобласта – гормон плацентарний лактоген та фермент плацентарну лужну фосфатазу.

Ключові слова: передчасні пологи; хоріальні ворсинки плаценти; диференційований трофобласт.

Вступ

Актуальність вивчення гістохімічних та імуногістохімічних особливостей трофобласта хоріальних ворсинок плаценти при передчасних пологах визначається загрозливістю цього стану для матері та плоду, а також його високою поширеністю та серйозними наслідками для здоров'я обох. Світова статистика свідчить про по-

стійний ріст випадків передчасних пологів, що зумовлює необхідність глибокого розуміння молекулярно-клітинних процесів, які лежать в основі цього патологічного стану. Наукове дослідження гістохімічних та імуногістохімічних аспектів диференційованого трофобласта в даному контексті важливе для розкриття нових перспектив діагностики та лікування передчас-

них пологів. Уявлення про ушкодження трофобласта хоріальних ворсинок плаценти може розширити гістохімічні та імуногістохімічні методи, які дозволяють так чи інакше оцінити концентрацію певних маркерних молекул. Зокрема, вивчення взаємодії між клітинами диференційованого трофобласта та мікросередовищем плаценти може сприяти виявленню нових молекулярних маркерів та терапевтичних підходів. Така методологія має потенціал покращити прогноз патології, зменшити ризики для матері та плода, вплинути на стратегію управління вагітністю при передчасних пологах.

Мета дослідження. Встановити деякі гістохімічні та імуногістохімічні особливості білків диференційованого трофобласта проміжних і термінальних хоріальних ворсинок плаценти при передчасних пологах.

Матеріал і методи дослідження

Отриманий матеріал (30 плацент при передчасних пологах та 30 плацент при фізіологічній вагітності) фіксували протягом 20-24 годин у 10 %-му нейтральному розчині формаліну, забуференому в фосфатному буфері за Ліллі. Після вирізки тканину плаценти зневоднювали у висхідній батареї етанолу та заливали в парафін-віск при температурі близько 58 °С. На санному мікротомі МС-2 отримували серіями гістологічні зрізи 5,0 мкм завтовшки. Після депарафінізації гістологічні зрізи забарвлювали гематоксиліном і еозином, застосовували гістохімічну методику на загальний білок з бромфеноловим синім за Бонхегом, а також імуногістохімічні методику у відповідності до протоколів, наданих виробником (Дакко, Данія). Зокрема, провели імуногістохімічні реакції з моноклональними антитілами до гормону трофобласта – плацентарного лактогену та плацентарної лужної фосфатази. Візуалізацію первинних антитіл здійснювали полімерною системою візуалізації Dako з барвником діамінобензидином (дає коричневе забарвлення місць розташування досліджуваних антигенів).

Окрім описового методу гістопатологічного дослідження виконана комп'ютерна морфометрія цифрових мікрофотографій гістологічних зрізів (мікроскоп Delta Optical Evolution 100 та цифрова камера Olympus SP550UZ). Цифрові копії зображення обробляли за допомогою легітимної копії комп'ютерної програми ImageJ v1.52f, яка розроблена для гістометричних досліджень (National Institutes of Health, США). Зокрема, на цифрових мікрофотографіях оцінку інтенсивності забарвлення (оптичної густини) здійснювали за допомогою методу

комп'ютерної мікроденситометрії. Для цього мікросондовим методом отримували комп'ютерну величину яскравості забарвлення у 8-бітній системі аналізу з 256 градаций сірого – від чорного (0) до білого (255), а потім отримані величини шляхом логарифмічного перетворення (метод натурального логарифму) переводили у величину відносної оптичної густини (в.од.опт.густини). Величина відносної оптичної густини коливається від 0 (абсолютна прозорість об'єкта) до 1 (абсолютна непрозорість об'єкта).

Отримані цифрові дані оброблено методами статистичного аналізу. За допомогою легітимної копії комп'ютерної програми для статистичних обчислень PAST v4.14 застосовували попередню перевірку на нормальність розподілу за критерієм Shapiro-Wilk. Оскільки щодо вивчених статистичних вибірок згідно з названим критерієм, гіпотеза про нормальність розподілу не відхилилася (при $p=0,05$), то застосовували параметричні методи статистичного аналізу: обрахування величини середньої арифметичної та її похибки, критерій Стьюдента (двобічний непарний). Також для надійності висновків використали й непараметричний критерій Mann-Whitney.

Дослідження проведено відповідно до плану науково-дослідної роботи кафедри акушерства та гінекології Буковинського державного медичного університету «Збереження та відновлення репродуктивного здоров'я жінок та дівчат при акушерській і гінекологічній патології» (січень 2021 р. – грудень 2025 р.), номер державної реєстрації 0121U110020.

Результати дослідження та їх обговорення

Під час мікроскопії гістологічних зрізів, забарвлених гематоксиліном і еозином не виявлено жодних відмінностей у будові трофобласта хоріальних ворсинок плаценти при передчасних пологах у порівнянні з фізіологічною вагітністю. Однак, гістохімічний та імуногістохімічний методи дослідження показали низку особливостей трофобласта хоріальних ворсинок плаценти, на території яких відбуваються основні події щодо обміну речовин – проміжні незрілі, проміжні зрілі, термінальні ворсинки, у тому числі термінальні «спеціалізовані ворсинки». Для зручності в якості робочого терміну вищевказані ворсинки названі ворсинками «обміну».

При вивченні гістохімічних препаратів, забарвлених на загальний білок за Бонхегом, проведена кількісна оцінка за допомогою методу комп'ютерної морфометрії з отриманням показника «Оптична густина забарвлення на загальний білок» у відносних одиницях оптичної густини (в.од.опт.густ.). Такі дані подані у таблиці 1.

Таблиця 1

Оптична густина гістохімічного забарвлення на загальний білок в трофобласті ворсинок «обміну» плаценти при передчасних пологах та фізіологічній вагітності ($M \pm m$)

Показник	Фізіологічна вагітність (n=30)	Передчасні пологи (n=30)
Оптична густина забарвлення на загальний білок в трофобласті проміжних незрілих ворсинок (в.од.опт.густ.)	0,26±0,010	0,25±0,011
Оптична густина забарвлення на загальний білок в трофобласті проміжних зрілих ворсинок (в.од.опт.густ.)	0,31±0,012	0,26±0,011
Оптична густина забарвлення на загальний білок в трофобласті термінальних та термінальних «спеціалізованих» ворсинок (в.од.опт.густ.)	0,34±0,012	0,28±0,012

Зокрема, з даних таблиці 1 видно, що тоді, коли в трофобласті проміжних незрілих ворсинок при передчасних пологах оптична густина забарвлення на загальний білок не змінюється, то в трофобласті проміжних зрілих ворсинок і в термінальних ворсинках

вона знижується ($p < 0,05$ згідно статистичних критеріїв Стьюдента та Mann-Whitney).

Описані закономірності щодо результатів гістохімічної методики на загальний білок з бромфеноловим синім за Бонхегом проілюстровані за допомогою рисунків 1 та 2.

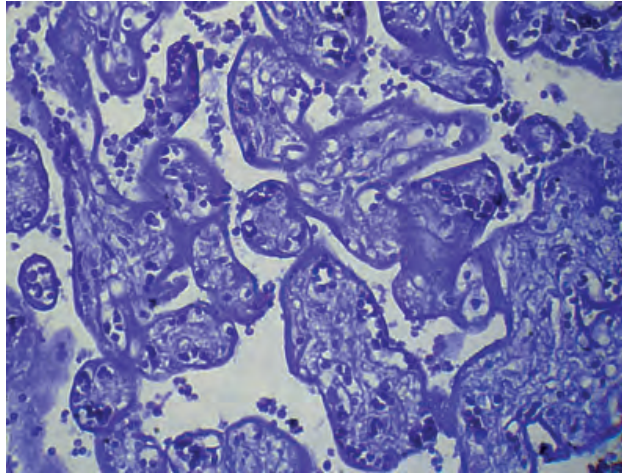


Рис. 1. Фізіологічна вагітність. У полі зору проміжні зрілі та термінальні ворсинки. Гістохімічна методика на загальний білок з бромфеноловим синім за Бонхегом. Об.20х, Ок.10х (оптичне збільшення 200х)

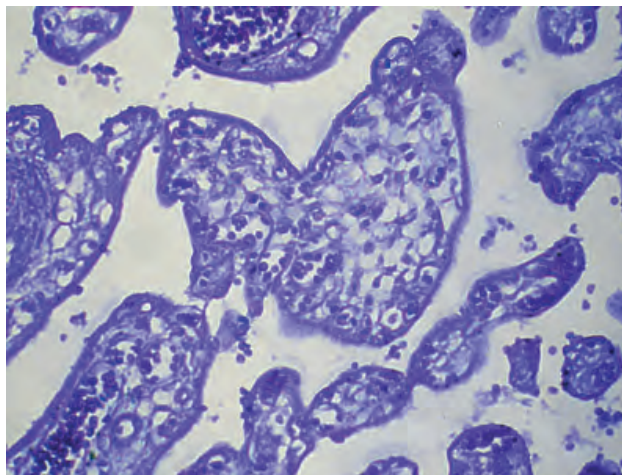


Рис. 2. Передчасні пологи. У полі зору проміжні зрілі та термінальні ворсинки. Гістохімічна методика на загальний білок з бромфеноловим синім за Бонхегом. Об.20х, Ок.10х (оптичне збільшення 200х)

Аналогічне дослідження, тільки з використанням імуногістохімічного методу, було проведено щодо специфічного білка, який при вагітності виробляється трофобластом плаценти – гормону плацентарного лак-

тогену. Результати об'єктивного оцінювання по імуногістохімічному визначенню плацентарного лактогену в трофобласті ворсинок «обміну» наведені в таблиці 2, і проілюстрована мікрофотографія на рисунках 3 та 4.

Таблиця 2

Оптична густина імуногістохімічного забарвлення на плацентарний лактоген в трофобласті ворсинок «обміну» плаценти при передчасних пологах та фізіологічній вагітності ($M \pm m$)

Показник	Фізіологічна вагітність (n=30)	Передчасні пологи (n=30)
Оптична густина забарвлення на плацентарний лактоген в трофобласті проміжних незрілих ворсинок (в.од.опт.густ.)	0,22±0,005	0,21±0,008
Оптична густина забарвлення на плацентарний лактоген в трофобласті проміжних зрілих ворсинок (в.од.опт.густ.)	0,32±0,009	0,24±0,010
Оптична густина забарвлення на плацентарний лактоген в трофобласті термінальних та термінальних «спеціалізованих» ворсинок (в.од.опт.густ.)	0,37±0,009	0,26±0,008

Зокрема, з даних таблиці 2 видно, що тоді, коли в проміжних незрілих ворсинках щодо плацентарного лактогену трофобласта при передчасних пологах змін не видно, то в проміжних зрілих ворсинках та термі-

нальних і термінальних «спеціалізованих» ворсинках за показником «Оптична густина забарвлення на плацентарний лактоген в трофобласті» відмічається зниження продукції цього гормону.

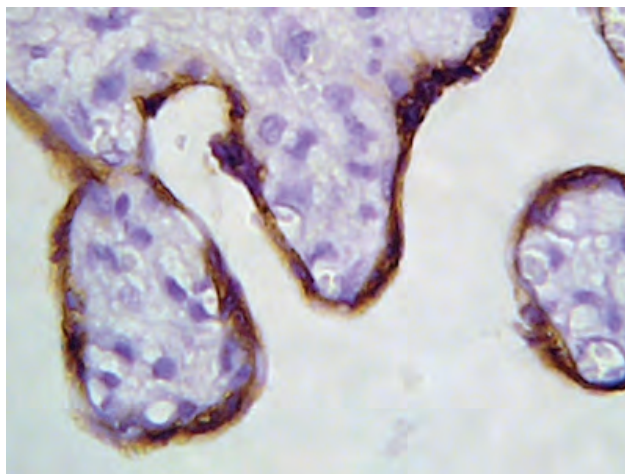


Рис. 3. Фізіологічна вагітність. У полі зору проміжні зрілі та термінальні ворсинки. Імуногістохімічна методика з первинними антитілами проти плацентарного лактогену і полімерною системою виявлення (візуалізація діамінобензидином – показано стрілками) з дозбарвленням гематоксилином Грота. Об.40х, Ок.10х (оптичне збільшення 400х)

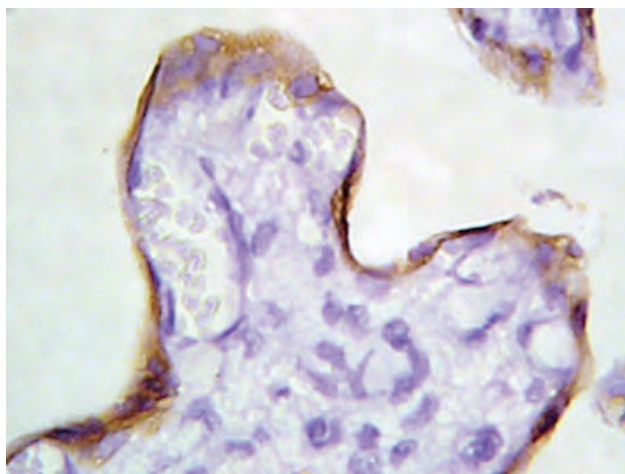


Рис. 4. Передчасні пологи. У полі зору проміжні зрілі та термінальні ворсинки. Імуногістохімічна методика з первинними антитілами проти плацентарного лактогену і полімерною системою виявлення (візуалізація діамінобензидином – показано стрілками) з дозбарвленням гематоксилином Грота. Об.40х, Ок.10х (оптичне збільшення 400х)

Подібне до плацентарного лактогену імуногістохімічне дослідження здійснено і для іншого специфічного білка трофобласта – плацентарної лужної

фосфатази. Кількісними методами (табл. 3) виявлені такі ж закономірності, як і для плацентарного лактогену.

Таблиця 3

Оптична густина імуногістохімічного забарвлення на плацентарну лужну фосфатазу в трофобласті ворсинок «обміну» плаценти при передчасних пологах та фізіологічній вагітності ($M \pm m$)

Показник	Фізіологічна вагітність (n=30)	Передчасні пологи (n=30)
Оптична густина забарвлення на плацентарну лужну фосфатазу в трофобласті проміжних незрілих ворсинок (в.од.опт.густ.)	0,21±0,007	0,20±0,007
Оптична густина забарвлення на плацентарну лужну фосфатазу в трофобласті проміжних зрілих ворсинок (в.од.опт.густ.)	0,31±0,010	0,23±0,008
Оптична густина забарвлення на плацентарну лужну фосфатазу в трофобласті термінальних та термінальних «спеціалізованих» ворсинок (в.од.опт.густ.)	0,36±0,009	0,24±0,009

Імуногістохімічне забарвлення на плацентарну лужну фосфатазу в трофобласті ворсинок плаценти

при передчасних пологах та фізіологічній вагітності показано на рисунках 5 та 6.

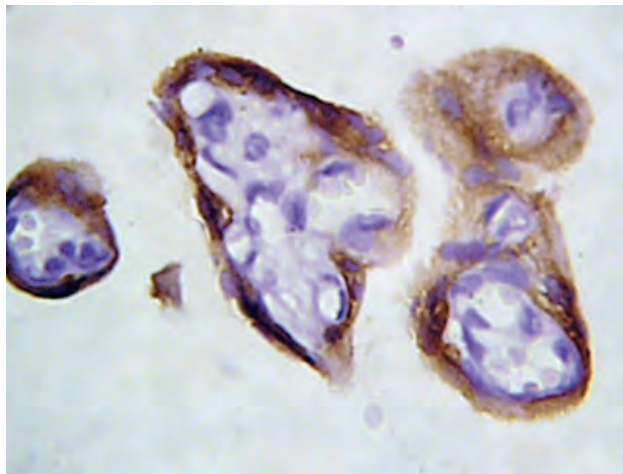


Рис. 5. Фізіологічна вагітність. У полі зору проміжні зрілі та термінальні ворсинки. Імуногістохімічна методика з первинними антитілами проти плацентарної лужної фосфатази і полімерною системою виявлення (візуалізація діамінобензидином – показано стрілками) з дозбарвленням гематоксилином Грота. Об.40х, Ок.10х (оптичне збільшення 400х)

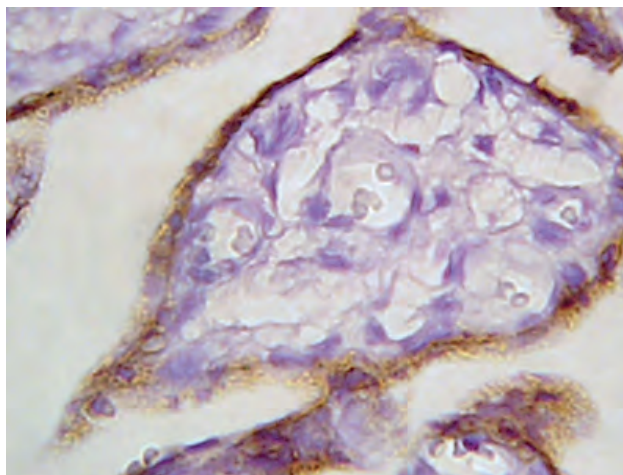


Рис. 6. Передчасні пологи. У полі зору проміжні зрілі та термінальні ворсинки. Імуногістохімічна методика з первинними антитілами проти плацентарної лужної фосфатази і полімерною системою виявлення (візуалізація діамінобензидином – показано стрілками) з дозбарвленням гематоксилином Грота. Об.40х, Ок.10х (оптичне збільшення 400х)

Висновки

Згідно отриманих гістохімічних та імуногістохімічних даних, при передчасних пологах, у порівнянні з фізіологічною вагітністю, в трофобласті проміжних незрілих ворсинок змін не відмічається, тоді як у проміжних зрілих та термінальних ворсинках спостерігається зниження гістохімічного забарвлення на загальний білок та імуногістохімічного забарвлення на специфічні білки трофобласта – гормон плацентарний лактоген та фермент плацентарну лужну фосфатазу.

Перспективи подальших досліджень. Дослідження плаценти при передчасних пологах, яке не вия-

вило структурних відмінностей у трофобласті хоріальних ворсинок порівняно з фізіологічною вагітністю, висуває нові питання щодо функціональних аспектів цих структур. Гістохімічні та імуногістохімічні аналізи, які виявили «спеціалізовані ворсинки» із зниженою оптичною густиною білка в проміжних зрілих та термінальних ворсинках, підкреслюють необхідність докладніших досліджень їхньої ролі та впливу на обмін речовин у контексті передчасних пологів. Додаткові статистичні та молекулярні дослідження можуть розкрити механізми, що лежать в основі цих особливостей та визначити їхню клінічну значущість.

Фінансування: самофінансування.

Література:

1. Живецька-Денисова АА, Воробйова ІІ, Скрипченко НЯ, Толкач СМ, Раздайбедін СМ, Бондаренко ЮМ. Плацентарні маркери невиношування вагітності. Патологія. 2021;18(3):328-39. doi: 10.14739/2310-1237.2021.3.232302
2. Ібадова ТВ, Маляр ВВ, Маляр ВА, Маляр ВВ. Комплексна оцінка перебігу загрози передчасних пологів у жінок з недиференційованою дисплазією сполучної тканини. Український медичний часопис. 2022;5:1-3. doi: 10.32471/umj.1680-3051.151.234210

3. Коровай СВ, Лахно ІВ. Підвищення ефективності прогнозування передчасних пологів. Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія Медицина. 2021;42:51-6. doi: 10.26565/2313-6693-2021-42-06
4. Кравченко ОВ. Особливості формування судинного компонента хоріона при невиношуванні вагітності у І триместрі гестації. Здоров'я жінки. 2016;8:72-4. doi: 10.15574/HW.2016.114.72
5. Петренко СВ, Струбчевська КР. Передчасні пологи: питання прогнозування, профілактики та ведення (Огляд літератури). Репродуктивне здоров'я жінки. 2021;3:57-64. doi: 10.30841/2708-8731.3.2021.234245
6. Романенко ТГ. Плацентарна дисфункція як предиктор невиношування вагітності. Репродуктивна ендокринологія. 2017;1:77-82. doi: 10.18370/2309-4117.2017.33.77-82
7. Ткаліч ВО, Поладич ІВ. Імуногістохімічні особливості експресії прогестеронових рецепторів плацентарних структур при передчасних пологах. Здоров'я жінки. 2020;8:37-41. doi: 10.30841/2708-8731.6.2022.267680
8. Ткаліч ВО, Поладич ІВ, Купчик ВІ. Особливості плацентарних структур у жінок з передчасними пологами. Здоров'я жінки. 2020;8:37-41. doi: 10.15574/HW.2020.154.37
9. Щербина МО, Потапова ЛВ, Ліпко ОП, Щербина ІМ, Мерцалова ОВ. Біорегуляторні та імунологічні особливості розвитку передчасних пологів. Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології. 2022;1:48-51. doi: 10.11603/24116-4944.2022.1.13250
10. Krut YuYa, Shevchenko AA, Syusyuka VG. Current opportunities for determining of predictors of threatened preterm labor. Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології. 2019;1:160-4. doi: 10.11603/24116-4944.2019.1.10206
11. Shennan A, Suff N, Simpson JL, Jacobsson B, Mol BW, Grobman WA. FIGO Working Group for Preterm Birth. FIGO good practice recommendations on progestogens for prevention of preterm delivery. Int J Gynaecol Obstet. 2021;155(1):16-8. doi: 10.1002/ijgo.13852
12. Sitnikova VO, Nadvorna OM, Kashiyan OV. Morphological research of placenta in women with preterm labor. Вісник наукових досліджень. 2019;2:58-61. doi: 10.11603/2415-8798.2019.2.10272
13. Boelig RC, Schoen CN, Frey H, Gimovsky AC, Springel E, Backley S, et al. Vaginal progesterone vs intramuscular 17-hydroxyprogesterone caproate for prevention of recurrent preterm birth: a randomized controlled trial. Am J Obstet Gynecology. 2022; 226(5):722. doi: 10.1016/j.ajog.2022.02.012
14. Camen IV, Manolea MM, Vrabie SC, Sandulescu MS, Serbanescu MS, Boldeanu MV, et al. Prediction of Preterm Birth with Serial Measurements of Ultrasound Markers. Curr Health Sci J. 2022;48(2):162-8. doi: 10.12865/CHSJ.48.02.04
15. Cetinkaya S, Ozaksit G, Biberoglu EH, Oskovi A, Kirbas A. The value of acute phase reactants in predicting preterm delivery. J Matern Fetal Neonatal Med. 2017;30(24):3004-8. doi: 10.1080/14767058.2016.1271409
16. Cobo T, Kacerovsky M, Jacobsson B. Risk factors for spontaneous preterm delivery. Int J Gynaecol Obstet. 2020;150(1):17-23. doi: 10.1002/ijgo.13184
17. Crump C, Groves A, Sundquist J, Sundquist K. Association of preterm birth with long-term risk of heart failure into adulthood. Pediatrics. 2021;175(7):689-97. doi: 10.1001/jamapediatrics.2021.0131
18. da Fonseca EB, Damião R, Moreira DA. Preterm birth prevention. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2020;69:40-9. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2020.09.003
19. D'Antonio F, Berghella V, Di Mascio D, Saccone G, Sileo F, Flacco ME, et al. Role of progesterone, cerclage and pessary in preventing preterm birth in twin pregnancies: A systematic review and network meta-analysis. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2021;261:166-77. doi: 10.1016/j.ejogrb.2021.04.023
20. Devall AJ, Coomarasamy A. Sporadic pregnancy loss and recurrent miscarriage. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2020;69:30-9. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2020.09.002
21. Fowler AM, Salem K, DeGrave M, Ong IM, Rassman S, Powers GL, et al. Progesterone Receptor Gene Variants in Metastatic Estrogen Receptor Positive Breast Cancer. Horm Cancer. 2020;11(2):63-75. doi: 10.1007/s12672-020-00377-3
22. Frick AP. Advanced maternal age and adverse pregnancy outcomes. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2021;70:92-100. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2020.07.005
23. Menon R, Behnia F, Poletini J, Richardson LS. Novel pathways of inflammation in human fetal membranes associated with preterm birth and preterm pre-labor rupture of the membranes. Semin Immunopathol. 2020;42(4):431-50. doi: 10.1007/s00281-020-00808-x
24. Roman A, Ramirez A, Fox NS. Prevention of preterm birth in twin pregnancies. Am J Obstet Gynecol MFM. 2022;4(2 Suppl):100551. doi: 10.1016/j.ajogmf.2021.100551

HISTOCHEMICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL FEATURES OF DIFFERENTIATED TROPHOBLAST IN CHORIONIC VILLI OF THE PLACENTA IN PRETERM LABOR

P. Y. Tokar

**Bukovinian State Medical University, Ministry of Health of Ukraine
(Chernivtsi, Ukraine)**

Summary.

The importance of studying the histochemical and immunohistochemical features of the differentiated trophoblast in chorionic villi of the placenta in preterm labor is determined by the threatening nature of this condition for both mother and fetus, as well as its high prevalence and serious consequences for the health of both. The understanding of the damage to the trophoblast of chorionic villi in the placenta can be expanded by histochemical and immunohistochemical methods, which allow the assessment of the concentration of specific marker molecules in one way or another.

Objective. To determine certain histochemical and immunohistochemical characteristics of proteins in the trophoblast of the intermediate and terminal chorionic villi of the placenta in preterm labor.

Material and Methods. The obtained material (30 placentas from preterm deliveries and 30 placentas from normal pregnancies) was fixed for 20-24 hours in 10 % neutral formalin solution buffered in Lilly's phosphate buffer. After tissue removal, the placental tissue was dehydrated in an ascending ethanol series and embedded in paraffin at a temperature of approximately 58 °C. Serial histologic

sections were cut at 5.0 μm thickness using an MS-2 sliding microtome. After deparaffinization, histological sections were stained with hematoxylin and eosin, histochemical methods for total protein with bromophenol blue according to Bonhème, and immunohistochemical techniques according to the manufacturer's protocols (Dako, Denmark). In particular, immunohistochemical reactions were performed with monoclonal antibodies against trophoblast hormone-placental lactogen and placental alkaline phosphatase. Visualization of primary antibodies was performed using the Dako polymer visualization system with diaminobenzidine as chromogen (resulting in brown staining of the sites of studied antigens).

In addition to the descriptive method of histopathologic research, computer morphometry of digital microphotographs of histologic sections was performed using a Delta Optical Evolution 100 microscope and an Olympus SP550UZ digital camera. Digital copies of the images were processed using a legitimate copy of the ImageJ v1.52f computer program developed for histometric studies (National Institutes of Health, USA). Specifically, the evaluation of staining intensity (optical density) was performed on digital microphotographs using the method of computer microdensitometry. For this purpose, a microprobe method was used to obtain a computer brightness value in an 8-bit analysis system with 256 gray levels – from black (0) to white (255). The obtained values were then transformed into relative optical density values (r.OD) by logarithmic transformation (natural logarithm method). The relative optical density value ranges from 0 (absolute transparency of the object) to 1 (absolute opacity of the object).

The obtained digital data were processed using statistical analysis methods. A legitimate copy of the statistical analysis computer program PAST v4.14 was used, with a preliminary check for normal distribution using the Shapiro-Wilk test. Since, according to this test, the hypothesis of normal distribution was not rejected for the statistical samples studied (at $p=0.05$), parametric methods of statistical analysis were applied: calculation of the mean and its standard error, Student's t-test (two-tailed, unpaired). In addition, the non-parametric Mann-Whitney test was used for the reliability of the conclusions.

The research was conducted as part of the scientific research project «Preservation and Restoration of Reproductive Health in Women and Girls with Obstetric and Gynecological Pathology» at the Department of Obstetrics and Gynecology of Bukovinian State Medical University (state registration number 0121U110020, duration 2021-2025).

Results. Microscopic examination of histological sections stained with hematoxylin and eosin did not reveal any differences in the structure of chorionic villus trophoblast in the placenta of preterm labor compared to normal pregnancy. However, histochemical and immunohistochemical methods of investigation revealed a number of features in the trophoblast of chorionic villi, where fundamental events related to substance exchange occur – intermediate immature, intermediate mature, terminal villi, including terminal «specialized villi».

Conclusions. According to the obtained histochemical and immunohistochemical data, in preterm labor, compared to normal pregnancy, no changes are observed in the trophoblast of intermediate immature villi, while in intermediate mature and terminal villi, there is a decrease in histochemical staining for total protein and immunohistochemical staining for specific trophoblast proteins – placental lactogen hormone and placental alkaline phosphatase enzyme.

Key words: Preterm Labor; Chorionic Villi of the Placenta; Differentiated Trophoblast.

Контактна інформація:

Токар Петро Юрійович – асистент, аспірант кафедри акушерства та гінекології Буковинського державного медичного університету (м. Чернівці, Україна).

e-mail: tokar.petro@bsmu.edu.ua

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5862-4532>

Scopus Author ID: <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57313781600>

Researcher ID: <http://www.researcherid.com/rid/AAO-3934-2020>

Contact Information:

Petro Tokar – Assistant, Postgraduate Student of the Department of Obstetrics and Gynecology of Bukovinian State Medical University (Chernivtsi, Ukraine).

e-mail: tokar.petro@bsmu.edu.ua

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5862-4532>

Scopus Author ID: <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57313781600>

Researcher ID: <http://www.researcherid.com/rid/AAO-3934-2020>

Надійшло до редакції 13.12.2023 р.

Підписано до друку 10. 02.2024 р.

