УДК 618.3-06.616.441-008.64]-07:618.36-091.8

Использование методов сканирующей микроскопии при исследовании маточно-плацентарных взаимоотношений при гипотиреозе

Т.В. ПАВЛОВА[1], Е.С. МАЛЮТИНА[1], В.А. ПЕТРУХИН[2]

[1]ГОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»; [2]ГУЗ «Московский областной НИИ акушерства и гинекологии»

Use of scanning microscopic techniques in the study of uteroplacental relationships in hypothyroidism

T.V. PAVLOVA[1], E.S. MALYUTINA[1], V.A. PETRUKHIN[2]

[1]Belgorod State National Research University; [2]Moscow Regional Research Institute of Obstetrics and Gynecology, Ministry of Health of the Moscow Region, Moscow

Проведено исследование маточно-плацентарных взаимоотношений у женщин с гипотиреозом и без него с использованием электронной и атомно-силовой сканирующей микроскопии, что дает возможность получать более широкие морфометрические характеристики. При этом использовали не только фиксированный, но и нативный материал, что приближает исследование к живому объекту и открывает новые возможности для экспресс-диагностики. Применение макро- и микроэлементного анализа позволяет изучать биохимические параметры структуры тканей матки и плаценты для дополнительной диагностики и разработки способов лечения.

Ключевые слова: плацента, гипотиреоз, сканирующая микроскопия.

Uteroplacental relationships were studied in women with and without hypothyroidism, by applying electron, atomic force, and scanning electron microscopies, which enables one to gain more insight into morphometric characteristics. Moreover, not only fixed, but also native materials were used, which brings the studies to a live object and opens up new avenues for rapid diagnosis. The use of gross and trace analysis allows the biochemical parameters of the structure of uterine and placental tissues to be studied for an additional diagnosis and development of treatment options.

Key words: placenta, hypothyroidism, scanning electron microscopy.

Современные представления о структурной эволюции компонентов последа в течение нормальной беременности, об изменениях при воздействии многочисленных патологических факторов приведены во многих работах [1—5]. Однако ряд нерешенных вопросов диктует необходимость изучения данной системы с позиций применения новых инновационных методов исследования [6, 7].

Цель настоящей работы — исследование маточно-плацентарных взаимоотношений при гипотиреозе с применением сканирующей микроскопии (зондовой и электронной с точечным микроэлементным анализом).

Материалом для исследования послужили плаценты у 30 женщин с гипотиреозом. В качестве контроля использовали плаценты у 20 женщин без гипотиреоза. Во время операции кесарева сечения проводили забор материала для световой, зондовой и электронной микроскопии. Образцы просматривали и фотографировали в световом микроскопе TOPIC-T («CETI», Нидерланды). Для ультрамикроскопического исследования образцы фиксировали в глутаральдегиде. Помимо этого, пробы изучали на нефиксированном материале. Материал просматривали под растровым микроскопом FE1 Quanta 200 3D (Нидерланды—Чехия). В 5 точках ворсинчатого дерева определяли следующие макро- и микроэлементы: углерод, азот, кислород, натрий, магний, фосфор, серу, калий, кальций, фтор, кремний, хлор.

Для зондовой сканирующей микроскопии после предварительного просмотра срезов в световой микроскоп выбирали необходимые парафиновые блоки. После целевого просмотра проводили съемку и морфометрический анализ. Кроме того, изучали объекты, не залитые в парафин и не фиксированные. Атомно-силовая микроскопия выполнена в режиме постоянного или прерывистого контакта на приборе Ntegra-Aura (компания «НТ-МДТ», Зеленоград, Россия) с применением коммерческих Si или SiN кантилеверов («NSG01», «НТ МДТ», 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).

Масса плаценты при гипотиреозе перед лечением составляла 410,31±45 г (520±50 г в контрольной группе). Форма плацент была преимущественно овальной. Площадь, занятая инфарктами, кавернами, занимала до 6—7%. Инфаркты наблюдались в 60% плацент.

© Коллектив авторов, 2012

Павлова Татьяна Васильевна — д-р мед. наук, проф., зав. каф. патологии; 308015 г. Белгород, ул. Победы, д. 85; e-mail: pavlova@bsu.edu.ru

Макро- и микроэлементный состав ворсинчатого дерева при гипотиреозе

Макроэлементный состав	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*

Примечание. * — $p<0,05$ по отношению к контрольной группе.

Сосуды пуповины в этой группе были несколько расширены. С помощью атомно-силовой микроскопии выявлены изменения микрорельефа эндотелия с образованием выростов плазмолеммы клеток. Размер эндотелиоцитов составлял от 0,2 до 0,8 мкм. Обнаружена сложная система связей между клетками, что характерно как для контрольной группы, так и для плацент у женщин с гипотиреозом. При этом размер складок увеличивался, и они плотно прилегали друг к другу. В просвете сосудов пуповины были также выявлены адгезия форменных элементов крови **(рис. 1, а, б)** 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 обнаружен стаз, сладж-феномен и тромбоз. Детали взаимоотношений эндотелиоцитов в сосудах пуповины представлены на **рис. 1, в, г**.

При изучении ворсинчатого дерева было показано, что изменения произошли во всех его структурных компонентах. При гипотиреозе увеличивалось содержание промежу-

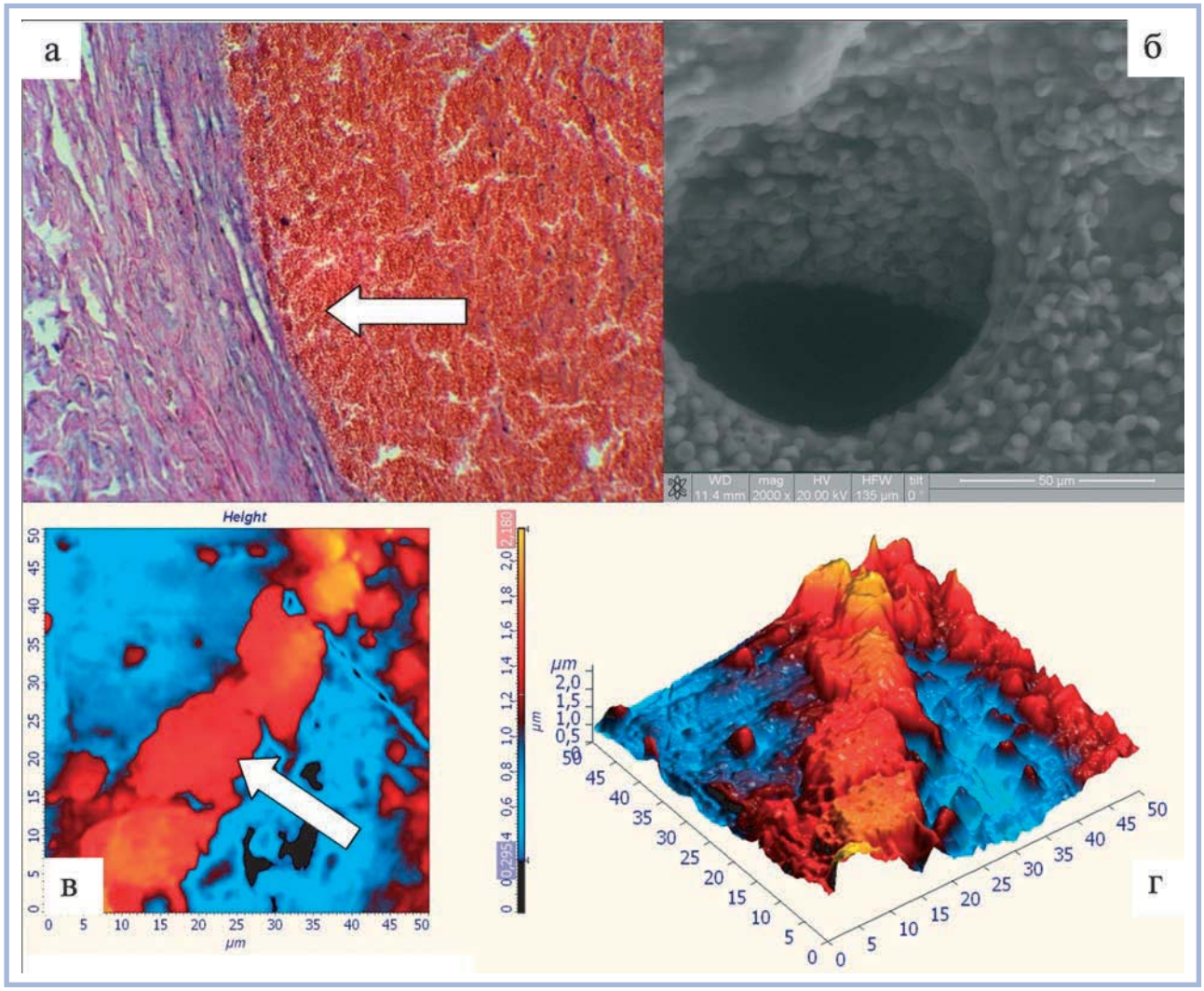


Рис. 1. **Фрагмент пуповины женщины с гипотиреозом.**
а, б — в просвете стаз эритроцитов. Слоистость эндотелиоцитов нарушена (указано стрелкой). Форма эритроцитов в просвете изменена; в, г — стенка сосуда пуповины состоит из эндотелиоцитов размером от 0,2 до 0,8 мкм (указано стрелкой), соединенных между собой с помощью сложных стыков. Окраска гематоксилином и эозином. ×400 (а); сканирующая электронная микроскопия (СЭМ). ×2000 (б); двухмерная гистограмма (в); трехмерная гистограмма получена при помощи зондовой сканирующей микроскопии (г).

точных ворсин и, наоборот, уменьшалось число терминальных. Ткань стволовых ворсин склерозирована, поэтому стволовые ворсины имели внутри незначительный перепад рельефа — 1,4±0,4 мкм, что хорошо видно при помощи атомно-силовой микроскопии. Просвет большинства сосудов был сужен по всей длине и составлял по глубине 1,2±0,4 мкм. 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 малокровны. В 18% сосудов обнаружены тромбы. В других были выявлены эритроциты. Поверхность эндотелия по люминарному краю сглажена. Число складок уменьшено. Расстояние между ними — от 1,4 до 2,9 мкм (1,3±0,2 мкм в контрольной группе). 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±50 мкм (300±30 мкм в контрольной группе). Перепад рельефа в них был еще меньше и составлял 0,8±0,2 мкм, что достоверно не отличалось от контрольной группы (0,7±0,2 мкм).

Терминальные ворсины в части котиледонов малокровны, а в других полнокровны. Содержание полнокровных ворсин невелико (22,5±0,7%). Возрастало число фибриноидно-измененных, склерозированных и отечных ворсин. Наблюдалась десквамация синцитиотрофобласта. Перепад рельефа составлял 3,2±1,6 мкм (в контрольной группе 2,6±0,7 мкм) за счет капилляров.

При изучении микроэлементного состава ворсинчатого дерева, полученного при помощи сканирующей электронной микроскопии, нами было показано, что при гипотиреозе в плаценте наблюдалось уменьшение содер-

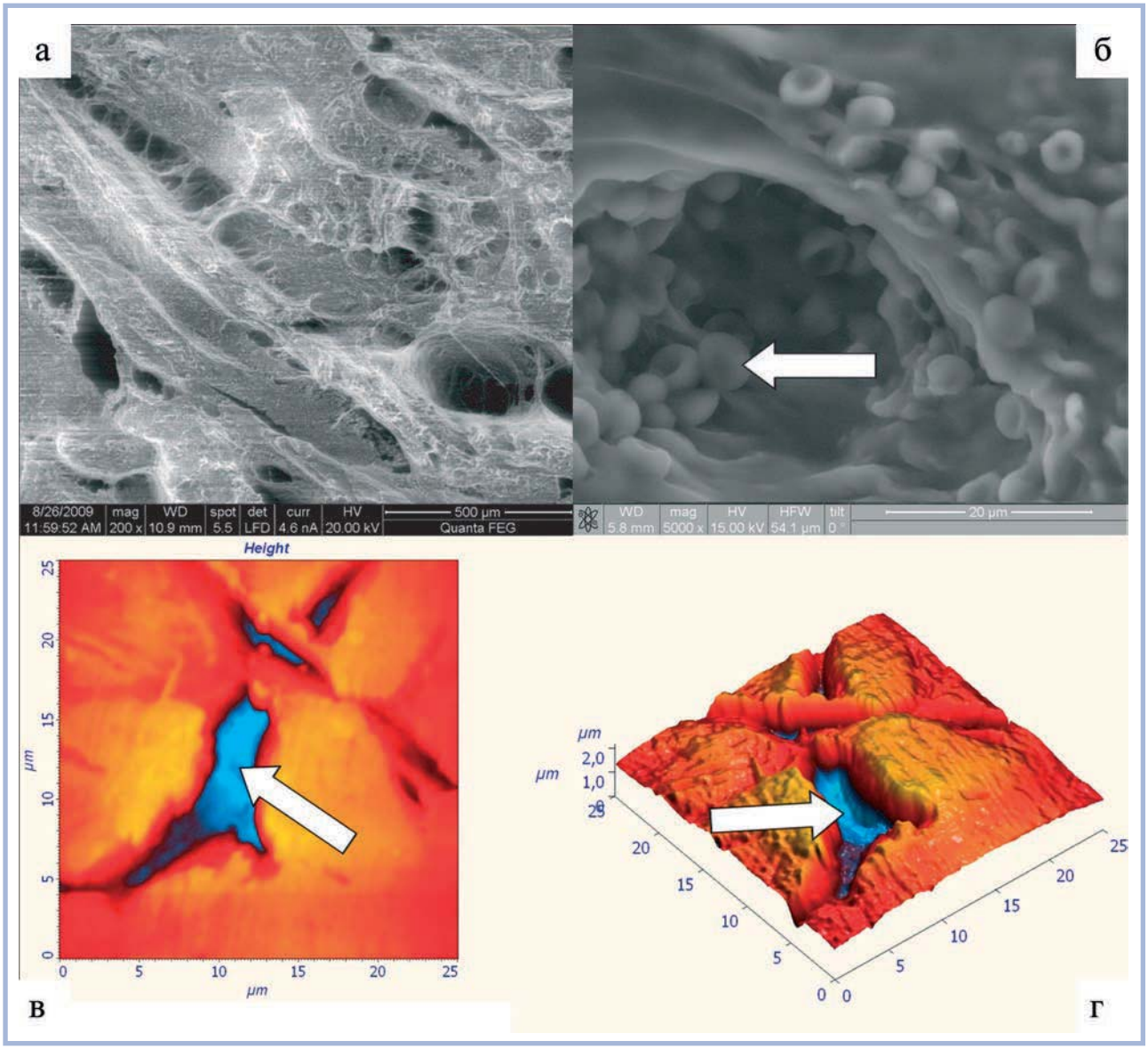


Рис. 2. **Фрагменты сосудов матки при гипотиреозе у матери, полученные в ходе операции кесарева сечения.**
Фрагментарное расширение сосудов по всей длине миометрия. а, б — сосуды полнокровны. Рельеф складок эндотелия нарушен за счет уменьшения их числа (указано стрелкой). СЭМ. ×200, ×5000; в — двухмерная гистограмма; г — трехмерная гистограмма, полученная при помощи зондовой сканирующей микроскопии.

жания кислорода, натрия, магния, фосфора, калия, кальция, железа **(см. таблицу)**.

При изучении миометрия было отмечено характерное для беременности увеличение размера миоцитов во всех группах. Особое внимание нами здесь было уделено исследованию сосудистого русла **(рис. 2)**. Так, исследование миометрия у женщин с гипотиреозом показало, что сосуды были расширены в большей степени **(см. рис. 2, а, б)**, чем в контрольной группе. Клетки крови наблюдались преимущественно вблизи люминарного края эндотелия. Характерными для данной группы были стаз, сладж и тромбоз, диапедезные кровоизлияния.

Складчатость эндотелия была нарушена **(см. рис. 2, в, г)**. При этом поверхность по люминарному краю была ровной. Наблюдались участки с альтеративными процессами. Протяженность сосудов на гистограммах составляла 1,8±0,4 мкм. Эритроциты чаще имели форму сферы, часть из них (10—12%) — нарушенную форму.

Таким образом, нами было показано, что применение как электронной, так и атомно-силовой микроскопии дает возможность получать более широкие морфометрические характеристики. Современные методы предполагают использование не только фиксированного, но и нативного материала, что приближает его к живому объекту и открывает новые возможности для экспресс-диагностики. Применение макро- и микроэлементного анализа позволяет изучать биохимические параметры структуры тканей матки и плаценты для дополнительной диагностики и разработки способов лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Павлова Т.В., Лапенко Д.А.* В кн.: Павлова Т.В., ред. Вопросы эпидемиологии, этиологии, классификации и морфогенеза заболеваний щитовидной железы. Белгород 2004; 87—113.
2. *Павлова Т.В., Рябых В.И., Павлова Л.А. и др.* Влияние региональных факторов Белгородской области на формирование здоровья населения. В кн.: Региональные гигиенические проблемы и стратегия охраны здоровья населения: Научные труды Федерального научного центра гигиены Ф.Ф. Эрисмана. М 2004; 145—147.
3. *Павлова Т.В., Родяшина О.А., Лапенко Д.А. и др.* Особенности системы мать-плацента-плод при эндокринопатиях. Научные ведомости БелГУ 2004; 1: 18: 122—125.
4. *Павлова Т.В., Петрухин В.А., Рябых Р.В., Павлова Л.А.* Влияние патологии щитовидной железы матери на формирование взаимосвязей в системе мать—плацента—плод. Арх пат 2006; 68: 4: 22—24
5. *Павлова Т.В., Петрухин В.А., Жиляева О.Д., Надеждин С.В.* Морфология плаценты при беременности на фоне железодефицитной анемии. Арх пат 2007; 69: 2: 31—32.

Поступила 21.11.2011