

УДК 618.177-089.888.11:618.25:618.36

I.V. Poladich, O.Yu. Kostenko
**Експресія прогестеронових рецепторів
при багатоплідній вагітності**

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ, Україна

Ukrainian Journal Health of Woman. 2023. 6(169): 34-38; doi 10.15574/HW.2023.169.34

For citation: Poladich IV, Kostenko OYu. (2023). Expression of progesterone receptors in multiple pregnancy. Ukrainian Journal Health of Woman. 6(169): 34-38; doi 10.15574/HW.2023.169.34.

На сьогодні основною причиною невиношування вагітності є гормональні порушення, зокрема прогестеронова недостатність. Сьогодні активно обговорюється роль прогестеронової недостатності в генезі акушерсько-гінекологічних втрат. Прогестерон і кількість його рецепторів відіграють ключову роль у підтримці та пролонгації вагітності. Плацента, яка є основним місцем синтезу прогестерону, являє собою значуще джерело інформації та є важливим діагностичним об'єктом. Отримані дані під час дослідження плаценти є абсолютно необхідними для розуміння етіопатогенетичних змін невиношування в разі багатоплідної вагітності.

Мета — проаналізувати імуногістохімічні зміни експресії прогестеронових рецепторів у плацентарних структурах породілей із дихоріальною та діамніотичною двійнею залежно від способу настання вагітності.

Матеріали та методи. Виконано клініко-статистичний аналіз перебігу вагітності та пологів у жінок, які мали багатоплідну вагітність, обумовлену застосуванням допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ). Для визначення експресії прогестеронових рецепторів проведено імуногістохімічне дослідження плацент жінок із дихоріальною та діамніотичною двійнею, обумовленою застосуванням ДРТ.

Результати. Виявлено, що жінки з багатопліддям, обумовленим застосуванням ДРТ, мають ускладнений соматичний і акушерсько-гінекологічний анамнез, що в подальшому негативно впливає на результати та перебіг вагітності. Ускладнений перебіг вагітності впливає не лише на процес пологів, але й на терміни народження, оскільки передчасні пологи при багатоплідді спостерігаються удвічі частіше, ніж при одноплідді. За даними імуногістохімічного аналізу плаценти виявлено найвищу кількість прогестеронових рецепторів та їхньої експресії у ядрах децидуальних клітин (50%) материнської структури плаценти жінок із дихоріальною та діамніотичною двійнею, обумовленою застосуванням ДРТ.

Висновки. Отримані дані експресії прогестеронових рецепторів свідчать про очевидний зв'язок структурних взаємодій між плацентою та ендометрієм, який є ключовим компонентом у доцільності призначення прогестеронової терапії для профілактики акушерських і перинатальних втрат.

Дослідження виконано відповідно до принципів Гельсінської декларації. Протокол дослідження ухвалено Локальним етичним комітетом зазначеної в роботі установи. На проведення досліджень отримано інформовану згоду жінок.

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Ключові слова: багатоплідна вагітність, невиношування вагітності, допоміжні репродуктивні технології (ДРТ), ранні репродуктивні втрати, недостатність прогестерону, імуногістохімія.

Expression of progesterone receptors in multiple pregnancy

I.V. Poladich, O.Yu. Kostenko

Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

Hormonal disorders, specifically progesterone insufficiency, constitute the primary cause of pregnancy loss. The role of progesterone insufficiency in the genesis of obstetric and gynecological losses is actively discussed worldwide. Progesterone and the quantity of its receptors play a crucial role in the maintenance and prolongation of pregnancy. The placenta, being the main site of progesterone synthesis, represents a significant source of information and serves as an essential diagnostic object. The obtained data during placental research are indispensable for understanding the etiopathogenic changes in pregnancy loss in the case of multiple pregnancies.

Purpose — to analyze the immunohistochemical changes in the expression of progesterone receptors in placental structures of parturients with dichorionic diamniotic twins depending on the method of conception.

Materials and methods. We conducted a clinical-statistical analysis of the course of pregnancy and childbirth in women with multiple pregnancies induced by assisted reproductive technologies (ART). To determine the expression of progesterone receptors, immunohistochemical research of placentas from women with dichorionic and diamniotic twins resulting from ART was carried out.

Results. The study revealed that women with multiple pregnancies induced by ART had a complicated somatic and obstetric-gynecological history, which subsequently negatively influenced the outcomes and course of pregnancy. A complicated pregnancy not only affects the process of childbirth but also the timing of delivery, as premature births in multiple pregnancies occur twice as often as in singleton pregnancies. Immunohistochemical analysis of the placenta showed the highest quantity of progesterone receptors and their expression in the nuclei of decidual cells (50%) of the maternal structure of the placenta in women with dichorionic and diamniotic twins resulting from ART.

Conclusions. The obtained data on the expression of progesterone receptors indicate an evident connection between structural interactions of the placenta and endometrium, which is a key component in the advisability of prescribing progesterone therapy for the prevention of obstetric and perinatal losses.

The research was carried out in accordance with the principles of the Helsinki Declaration. The study protocol was approved by the Local Ethics Committee of the participating institution. The informed consent of the patient was obtained for conducting the studies.

No conflict of interests was declared by the authors.

Keywords: multiple pregnancy, pregnancy loss, assisted reproductive technology, early reproductive losses, progesterone deficiency, immunohistochemistry.

Вступ

Незважаючи на науковий прогрес, багатоплідна вагітність (БВ) у результаті застосування допоміжних репродуктивних технологій (ДРТ) не втрачає своєї актуальності та зберігає статус пріоритетної проблеми сучасного акушерства у зв'язку з високою частотою акушерських і перинатальних втрат [2,6–8]. Перебіг БВ у результаті ДРТ відрізняється від одноплідної вагітності через часті випадки ускладнень, таких як анемія, преєклампсія, невиношування, порушення положення та розташування плода, дисфункція плаценти, затримка розвитку плода, нерівномірний ріст плода, відмінності в розмірах при народженні та вроджені аномалії розвитку плода [3]. За даними Associations of Reproducologists, у 72% жінок вагітність перебігає без ускладнень і приводить народження живих дітей, при цьому в 28–46% випадків БВ унаслідок застосування ДРТ закінчується передчасними пологамі [1,11]. Частота мимовільних викиднів у терміні до 12 тижнів вагітності досягає 30–54%, із яких 75% мають обтяжений, не тільки акушерсько-гінекологічний, але й соматичний анамнез [4,5].

На сьогодні прогестерон є ключовим елементом успішної вагітності. Багаточисленні дослідження довели його роль у виникненні передчасних пологів при одноплідді, але інформації про його роль при багатоплідді недостатньо [10]. Плацента є основним місцем синтезу прогестерону, тому вивчення її імуногістохімічних змін при багатоплідді становить значний науковий інтерес [9].

Мета дослідження — вивчити імуногістохімічні зміни плацентарних структур у породілей із дихоріальною та диамніотичною двійнею після застосування ДРТ для обрання стратегії ведення цієї категорії вагітних та попередження і зменшення перинатальних втрат.

Матеріали та методи дослідження

У період із липня 2022 року по липень 2023 року проведено клініко-статистичний аналіз перебігу БВ і пологів на основі обмінних карт вагітних (форма 113/у), історій пологів вагітних (форма 096/0), карт розвитку новонароджених (форма 097/о) та результатів патолого-гістологічних досліджень плацент досліджуваних груп. Усі жінки народжували на клінічній базі кафедри акушерства і гінекології №1 Національного медичного університету імені

О.О. Богомольця. У ході дослідження сформовано три групи: до I групи увійшли 42 вагітні з БВ унаслідок застосування ДРТ, до II групи — 38 вагітних із самостійною дихоріальною та диамніотичною двійнею; до III (контрольної) групи — 32 жінки з одноплідною вагітністю в результаті спонтанного запліднення. Критеріями залучення були вагітні з дихоріальною та диамніотичною двійнею.

Проведено морфологічний та імуногістохімічний аналіз послідів породілей із дихоріальною та диамніотичною двійнею в терміні від 24 до 36 тижнів гестації. Плаценти досліджено відповідно до наказу Міністерства охорони здоров'я України від 19.08.2004 № 417.

У дослідженні використано імуногістохімічний та гістологічний методи (забарвлення гематоксилін-еозином). Кількість рецепторів прогестерону на поверхні клітин оцінено непрямим стрептавидин-пероксидазним методом. Відповідно до протоколу, тканини оброблено так: спочатку виконано депарафінізацію та зневоднення тканини, після чого тканину промито буфером. Далі скло оброблено за допомогою Hydrogen Peroxide Block протягом 10 хв, після чого проведено ще одне промивання буфером. На наступному етапі нанесено реагент Ultra V block, проведено інкубацію протягом 5 хв за кімнатної температури. Після повторного промивання тканини використано первинні антитіла фірми «Thermo» (інкубацію проведено згідно з рекомендаціями виробника), після чого знову промито буфером. Для підвищення чутливості використано Primary Antibody Amplifier Quanto з інкубацією тривалістю 10 хв за кімнатної температури. Після наступного промивання буфером застосовано HRP Polymer Quanto з інкубацією протягом 10 хв за кімнатної температури. Для виклику потрібного забарвлення створено розчин, додавши 1 краплю (30 мл) DAB Chromogen Quanto до 1 мл DAB Substrate Quanto. Цей розчин змішано та нанесено на зріз, після чого інкубація відбулася протягом 5 хв. Забарвлену тканину промито дистильованою водою чотири рази.

Дослідження виконано відповідно до принципів Гельсінської декларації. Протокол дослідження ухвалено Локальним етичним комітетом зазначеної в роботі установи. На проведення досліджень отримано інформовану згоду жінок.

Щоб визначити інтенсивність і поширеність імуногістохімічної реакції, оцінено кількість клітин, ядра яких були позитивно зафарбо-

Таблиця

Зміни експресії рецепторів прогестерону, %

Показник	I група	II група	Контрольна група
<i>24–27 тижнів вагітності</i>			
Децидуальна оболонка	50*	30	20
Ворсинки хоріона	3,5	5,0	2,0
Позаворсинчастий трофобласт	15,0	15,0	2,5*
<i>28–36 тижнів вагітності</i>			
Децидуальна оболонка	35*	25	20
Ворсинки хоріона	12	18*	10,5
Позаворсинчастий трофобласт	14,0	8,5	2,0*

Примітка: * — $p < 0,05$.

вані, у відсотках від загальної кількості клітин (на кожних 100 клітин). Статистичний аналіз даних здійснено за допомогою програм «MS Excel 2010» та «SigmaPlot 13.0», використовуючи одновибірковий t-критерій Стьюдента.

Результати дослідження та їх обговорення

Під час наукового дослідження встановлено, що серед жінок із БВ у результаті застосування ДРТ вік варіював у межах 24–47 років, на відміну від жінок із самостійною БВ та одноплідною вагітністю (18–34 роки; $p < 0,05$). Відповідно до паритету пологів, БВ частіше виявлялася в жінок, які народжували вдруге або втретє і більше (55% і 32%, відповідно) у віці від 30 років. Однак у I групі більшість (66%) жінок народжували вперше, що можна пояснити застосуванням ДРТ. Неприятливе соматичне тло та обтяжений акушерсько-гінекологічний анамнез спостерігався в 70% вагітних I групи порівняно з II та III групами ($p < 0,05$).

Материнська захворюваність у разі БВ після застосування ДРТ визначалася суттєвим зростанням частоти таких акушерських ускладнень, як загроза переривання вагітності та передчасні пологи. Загроза переривання вагітності спостерігалася практично з однаковою частотою в обох групах жінок (23–67,6% та 20–62,75% у I та II групах, відповідно) порівняно з контрольною групою (5–15,5%); $p_{I,II} < 0,05$. Навіть при тому, що прояви загрози передчасних пологів виявлялися у 75,6% і 80,4% вагітних із БВ, як спонтанною, так і після застосування ДРТ, це ускладнення траплялося удвічі частіше в I та II групах порівняно з контрольною (46,4%); $p_{I,II} < 0,05$. Ускладнений перебіг вагітності відображався не тільки на характері пологів, але й на термінах розродження. Серед основних методів розродження була

висока частота проведення кесаревого розтину в I (56,8%) та II (35,7%) групах, при цьому в обох групах відмічалися значно вищі показники, ніж у контрольній (10,5%) групі; $p_{I,II} < 0,05$. Науковці пояснюють високий рівень проведення оперативного розродження в жінок із БВ у результаті застосування ДРТ високим ризиком виникнення акушерських і перинатальних втрат. Це пов'язано з обтяженим репродуктивним анамнезом на тлі ускладнень перебігу самої вагітності, що спрямовано на запобігання перинатальній патології.

Аналіз імуногістохімічних змін плацентарного бар'єру виявив найбільш виражену експресію рецепторів прогестерону в децидуальних клітинах материнських структур (табл.). Експресія прогестеронових рецепторів спостерігалася й у ядрах стінки судин, стовбурових ворсинках і фібробластах (рис. 1). Аналіз виявив найвищий рівень експресії моноклональних антитіл прогестеронових рецепторів у структурах плацент, і це стосується 50% випадків, коли відбулися ранні передчасні пологи (25–26 тижнів) у жінок із БВ після застосування ДРТ (рис. 2 і 3). Це істотно відрізнялося від показників у контрольній групі (20%) у цьому періоді гестації; $p_{I,II} < 0,05$. У жінок зі спонтанною БВ спостерігалася зниження рівня експресії прогестеронових рецепторів (30%), але це не мало статистично значущих відмінностей порівняно з I групою досліджених плацент (табл. 1). У разі збільшення терміну гестації відзначалося зниження активності експресії прогестеронових рецепторів незалежно від методу зачаття та кількості плодів (рис. 4).

Обговорення

Уперше виявлено рецептивність плацентарних структур при БВ залежно від способу запліднення і терміну гестації, що є надзвичайно важливим у виробленні тактики ведення вагітних із БВ після застосування ДРТ

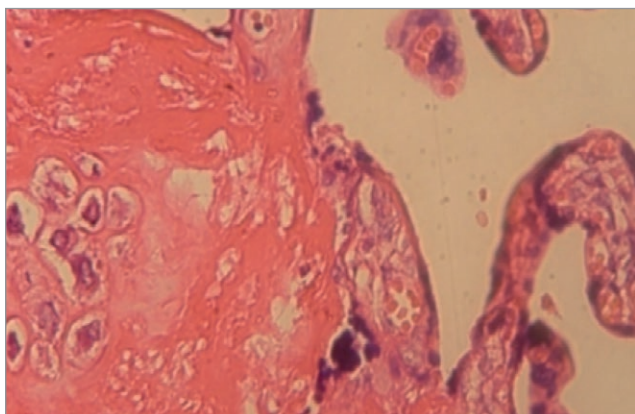


Рис. 1. Плацента жінки з багатоплідною вагітністю внаслідок застосування ДРТ, 24 тижні вагітності. У міжворсинчастому просторі — вогнище фібриноїду. Фарбування гематоксилином-еозином. Мікрофотографія. Окуляр 10, об'єктив 10

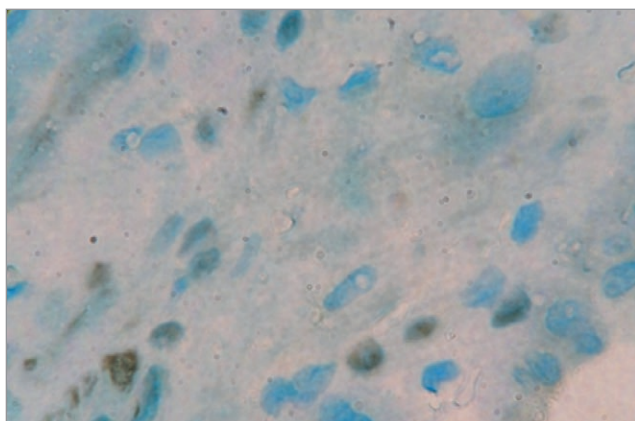


Рис. 3. Плацента жінки із самостійним багатопліддям, 25 тижнів гестації. Виразена експресія рецепторів прогестерону в децидуальній оболонці, визначена імуногістохімічним методом. Фарбування метиленовим зеленим. Мікрофотографія. Окуляр 10, об'єктив 100

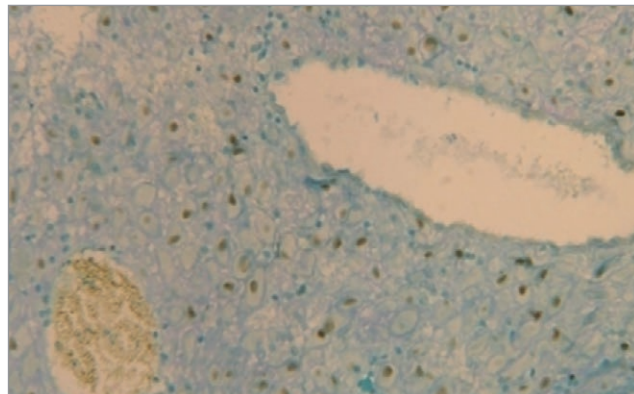


Рис. 2. Плацента жінки з багатоплідною вагітністю внаслідок застосування ДРТ, 28 тижнів вагітності. Виразена експресія прогестеронових рецепторів у ядрах децидуальних клітин навколо судин, визначена імуногістохімічним методом. Фарбування метиленовим зеленим. Мікрофотографія. Окуляр 10, об'єктив 40

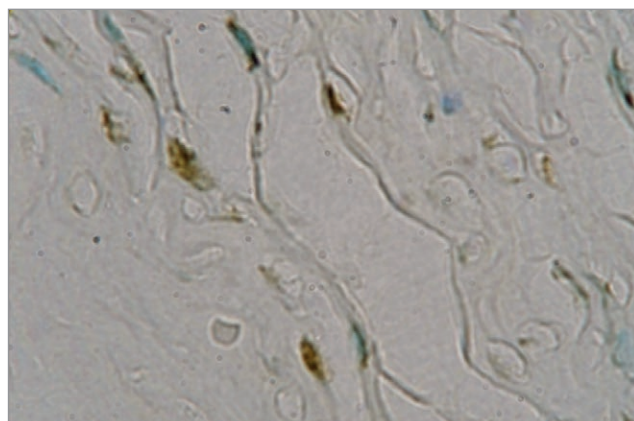


Рис. 4. Послід породілі контрольної групи, 32 тижні гестації. Експресія рецепторів прогестерону в ядрах клітин стромы, виявлена імуногістохімічним методом. Фарбування метиленовим зеленим. Мікрофотографія. Окуляр 10, об'єктив 100

для профілактики та зменшення перинатальних втрат.

Незважаючи на достатню насиченість прогестероном організму жінок із БВ після застосування ДРТ, яку підтверджено гормональними та імуногістохімічними дослідженнями, слід застосовувати цей гормон у зв'язку з його імуномодулюючою дією шляхом інтравагінального введення в разі виявлення імунологічного дисбалансу саме в цієї категорії вагітних.

Висновки

Вагітні з БВ у результаті застосування ДРТ входять до групи високого ризику щодо роз-

витку акушерських ускладнень. Залежно від терміну гестації та методу запліднення проявляються унікальні риси рецептивності до прогестерону в плацентарних структурах, що має важливе значення для обрання стратегії ведення цієї категорії вагітних для попередження та зменшення перинатальних втрат.

У зв'язку з цим виникає потреба в ретельному спостереженні й обстеженні пацієнток для зменшення частоти ускладнень, вироблення тактики ведення вагітності і пологів, збереження здоров'я жінки й отримання здорового покоління.

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

References/Література

1. Bergman L, Nordlöf–Callbo P, Wikström AK, Snowden JM, Hesselman S, Edstedt Bonamy AK, Sandström A. (2020, Jul). Share Multi-Fetal Pregnancy, Preeclampsia, and Long-Term Cardiovascular Disease. *Hypertension*. 76 (1): 167–175.
2. Bevilacqua E, di Marco G, Passananti E, Neri C, Airoidi C, Maccarrone A, Ciavarro V, Lanzone A, Familiari A. (2023, Jan 26). Multiple Pregnancy and the Risk of Postpartum Hemorrhage: Retrospective Analysis in a Tertiary Level Center of

- Care. *Diagnosics* (Basel). 13 (3): 446. doi: 10.3390/diagnostics13030446.
3. Franka GA. (2011). *Immunogistohimicheskiemetody: rukovodstvo*. Moskva: 224.
 4. Lama LD, Das T, Neupane A, Lama R, Pandey R, Karki U. (2020, Feb). Management of Quadruplet Pregnancy: A Case Report. *JNMA J Nepal Med Assoc*. 58 (222): 122–124.
 5. Legro RS. (2012, Apr). Superovulation and multiple birth: in search of kryptonite. *Fertil Steril*. 97 (4): 793–801.
 6. Markovich TE, Zarickij OO. (2015, Kvit 23–24). Analiz perebigu gestacijnogo periodu ta uskladnen' pribagatoplidnijvagitnosti. V: *Zbirniktezdpovidej III Mizhnarnauk-praktikonf-studentiv ta molodihvchenih Aktualni pitannya teoretichnoi ta praktichnoi medicine*. Sumi: SumDU: 329.
 7. Menshikov VV. (2009). *Laboratory quality assurance. Pre-analytical etap*. Moskva: Znanie: 350.
 8. Poladych IV, Kostenko Olu, Malanchuk OB, Demianenko AS. (2015). Bahatopliddia vnaslidok DRT, yak faktor rozvytku VVR ploda. *Ukrainskyi naukovo-medychnyi molodizhnyi zhurnal. Spetsialnyi vypusk*. 1 (85): 168. [Поладич ІВ, Костенко ОЮ, Маланчук ОБ, Демяненко АС. (2015). Багатопліддя внаслідок ДРТ, як фактор розвитку ВВР плода. *Український науково-медичний молодіжний журнал. Спеціальний випуск*. 1 (85): 168].
 9. Seetho S, Kongwattanakul K, Saksiriwuttho P, Thepsuthamarat K. (2023, Dec 18). Epidemiology and factors associated with preterm births in multiple pregnancy: a retrospective cohort study. *BMC Pregnancy Childbirth*. 23 (1): 872. doi: 10.1186/s12884-023-06186-0.
 10. Tkalich VO, Poladych IV. (2022). Imunohistokhimichni osoblyvosti ekspresii prohesteronovykh retseptoriv platsentarnykh struktur pry peredchasnykh polohakh. *Reproduktyvne zdorovia zhinky*. 6 (61): 18–21. [Ткалич ВО, Поладич ІВ. (2022). Імуногістохімічні особливості експресії прогестеронових рецепторів плацентарних структур при передчасних пологах. *Репродуктивне здоров'я жінки*. 6 (61): 18–21].
 11. Townsend R, Khalil A. (2021, Nov). Outstanding clinical and research questions in complex twin and multiple pregnancy. *Prenat Diagn*. 41 (12): 1482–1485.

Відомості про авторів:

Поладич Ірина Володимирівна — к.мед.н., доц. каф. акушерства і гінекології № 1 НМУ імені О.О. Богомольця. Адреса: м. Київ, бульвар Т. Шевченка, 13. <https://orcid.org/0000-0002-8494-2534>.

Костенко Ольга Юрійвна — к.мед.н., доц. каф. акушерства і гінекології № 1 НМУ імені О.О. Богомольця. Адреса: м. Київ, бульвар Т. Шевченка, 13. <https://orcid.org/0000-0003-4384-7861>.

Стаття надійшла до редакції 17.09.2023 р.; прийнята до друку 18.12.2023 р.