

DOI: 10.26565/2313-6693-2023-46-05

УДК 618.344:577.112

**Зац О. С.** <sup>A, B, C, D, E</sup>, **Шерстюк С. О.** <sup>A, C, F</sup>, **Сидоренко Р. В.** <sup>A, C, F</sup>,  
**Шерстюк Л. Л.** <sup>C, F</sup>, **Панов С. І.** <sup>A, C, F</sup>

Anatomy@karazin.ua

## **ЕКСПРЕСІЯ ЦИТОКЕРАТИНУ ТА ВІМЕНТИНУ У ВОРСИНАХ ХОРІОНА З АНТЕІНТРАНАТАЛЬНОЮ ЗАГИБЕЛЛЮ ПЛОДІВ НА ТЛІ УСКЛАДНЕНОЇ ВАГІТНОСТІ**

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

**Анотація.** Приблизно 3–10 % усіх вагітностей ускладнюються передчасним розривом мембран. Вагітність за наявності прееклампсії, гестаційної залізодефіцитної анемії і гострого хоріоамніоніту підвищує ризик розвитку передчасного розриву мембран. Ці ускладнення вагітності етіологічно пов'язані з факторами, що спричиняють передчасний розрив мембран, найбільш важливими з яких є оксидативний стрес із подальшим розвитком стерильного запалення, краплинної кровотечі з утворенням задньої плацентарної гематоми та запалення плаценти і плодових оболонок.

**Мета.** Визначити експресію цитокератину та віментину у ворсинах хоріона з антеінтранатальною загибеллю плодів на тлі ускладненої вагітності.

**Матеріали та методи.** У першу досліджувану групу увійшли 8 випадків із недоношеною вагітністю з прееклампсією; у другу групу – 8 спостережень доношеної вагітності з прееклампсією; у третю групу – 8 випадків недоношеної вагітності із залізодефіцитною анемією; у четверту – 8 випадків доношеної вагітності із залізодефіцитною анемією; у п'яту – 10 спостережень недоношеної вагітності з хоріоамніонітом; у шосту – 16 випадків доношеної вагітності з хоріоамніонітом. Для імуногістохімічного дослідження використовували непрямий імунопероксидазний метод із використанням моноклональних антитіл до cytokeratin pan (AE-1/AE-3) (DAKO, Denmark) – ідентифікували епітеліальні клітини, а моноклональні антитіла до vimentin (V9) (DAKO, Denmark) – ідентифікували мезенхімальні клітини.

**Результати.** У клінічних групах із недоношеною вагітністю інтенсивність реакції була добре вираженою у епітелії нормальних ворсин і нерівномірно вираженою або відсутньою у незрілих і склерозованих ворсинах. Рівень експресії цитокератину епітелієм ворсин у цих групах був значуще більшим порівняно з контрольною групою. У групах із доношеною вагітністю інтенсивність імуногістохімічної реакції була слабко вираженою в епітелії нормальних ворсин і слабко вираженою або відсутньою в незрілих і склерозованих ворсинах. Рівень експресії цитокератину епітелієм ворсин у цих групах був значуще меншим порівняно як з контрольною групою, так і з недоношеною вагітністю у разі аналогічної патології. У клінічних групах із доношеною вагітністю рівень експресії віментину в мезенхімальних клітинах ворсин достовірно збільшувався порівняно з клінічними групами з аналогічною патологією недоношеності та порівняно з групою контрольною групою.

**Висновки.** У ворсинах хоріона стається трансформація деяких клітин синцитіального епітелію в мезенхімальні клітини з фібробластоподібними властивостями, що можна підтвердити за допомогою появи віментин-позитивних епітеліальних клітин у синцитіотрофобласті ворсин.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** ворсини хоріона, цитокератин, віментин, мезенхімальні клітини, антеінтранатальна загибель, імуногістохімія

### **ІНФОРМАЦІЯ ПРО АВТОРІВ**

**Ольга Зац**, аспірантка кафедри нормальної анатомії та фізіології людини, медичний факультет, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, майдан Свободи, 4, Харків, Україна, 61022; e-mail: olgse@ukr.net, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4005-4428>

**Сергій Шерстюк**, д. мед. н., професор, завідувач кафедри нормальної анатомії та фізіології людини медичного факультету, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, майдан Свободи, 4, Харків, Україна, 61022; e-mail: sergeysherstyuk@karazin.ua, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6062-7962>

**Руслан Сидоренко**, к. мед. н., доцент кафедри нормальної анатомії та фізіології людини медичного факультету, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, майдан Свободи, 4, Харків, Україна, 61022; e-mail: Sidorenko.v1277@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-4442-4924>

**Людмила Шерстюк**, к. мед. н., доцент, завідувач кафедри загальної практики – сімейної медицини медичного факультету, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, майдан Свободи, 4, Харків, Україна, 61022; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2993-2843>

**Станіслав Панов**, асистент кафедри нормальної анатомії та фізіології людини медичного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна, майдан Свободи, 4, Харків, Україна, 61022; e-mail: [StanislavPanov@karazin.ua](mailto:StanislavPanov@karazin.ua), ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9264-0088>

*Для цитування:*

**Зац ОС, Шерстюк СО, Сидоренко РВ, Шерстюк ЛЛ, Панов СІ.** ЕКСПРЕСІЯ ЦИТОКЕРАТИНУ ТА ВІМЕНТИНУ У ВОРСИНАХ ХОРІОНА З АНТЕІНТРАНАТАЛЬНОЮ ЗАГИБЕЛЛЮ ПЛОДІВ НА ТЛІ УСКЛАДНЕНОЇ ВАГІТНОСТІ. Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія «Медицина». 2023;46:43–56. DOI: 10.26565/2313-6693-2023-46-05

## ВСТУП

Питання перинатальної захворюваності та смертності є актуальним у сучасній медицині [1]. Однією з основних причин смертності плода в антенатальному періоді є плацентарна недостатність, що зазвичай розвивається внаслідок запальних змін у посліді, головним чином через інфекції, які проникають до плаценти з інфікованих репродуктивних органів через шийку матки та оболонки плодового яйця [2, 3]. Запальні процеси в структурних компонентах посліду можуть призвести до низки ускладнень: передчасного вигнання навколоплідних вод [4, 5], викидня [6] і внутрішньоутробного інфікування плода [7]. У більшості випадків мертвонародження, особливо за наявності запального процесу в постнатальному періоді, ускладненнями є інфекційні патології матері та інші несприятливі чинники, переважно соматичні патології матерій ускладнена вагітність, так і як прееклампсія (ПЕ) [8] та залізодефіцитна анемія (ЗДА) [9], що призводять до порушення основних функцій плацентарної системи плода. Водночас, більш ніж у 40 % випадків причина внутрішньоутробної смерті залишається невідомою [10].

Результат вагітності та пологів багато в чому залежить від стану плодових оболонок, які забезпечують підтримання внутрішньоутробного перебування плода, виконують поживну, дихальну, видільну та захисну функції та беруть участь у виробленні простагландинів, хоріонічних гонадотропінів та інтерлейкіну-4 [11, 12]. У нормі цілісність мембрани підтримується впродовж усієї вагітності завдяки збалансованому стану руйнівних матричних протеаз та їхніх інгібіторів [13]. Водночас у

міру зростання плода відбувається старіння плодових оболонок, що спричиняє ушкодження тканин і стерильну запальну реакцію, що призводить до своєчасного розриву під час пологів [14].

Водночас приблизно 3–10 % усіх вагітностей ускладнюються передчасним розривом мембран (ПРМ), що пов'язано з 40–75 % перинатальних втрат [15]. Вагітність за наявності прееклампсії (ПЕ), гестаційної залізодефіцитної анемії (ЗДА) і гострого хоріоамніоніту (ХА) підвищує ризик розвитку ПРМ [16, 17, 18]. Ці ускладнення вагітності етіологічно пов'язані з факторами, що спричиняють ПРМ, найбільш важливими з яких є оксидативний стрес із подальшим розвитком стерильного запалення [19], краплинна кровотеча з утворенням задньої плацентарної гематоми в першому триместрі вагітності [20, 21] та запалення плаценти і плодових оболонок [22]. Ці фактори сприяють утворенню медіаторів запалення і запускають серію реакцій, внаслідок чого збільшується швидкість деградації колагену та інших компонентів позаклітинного матриксу плодової оболонки, що призводить до раннього розриву [23, 24].

## МЕТА ДОСЛІДЖЕННЯ

Мета дослідження ґрунтувалась на визначенні експресії цитокератину та віментину у ворсинах хоріона з антеінтранатальною загибеллю плодів на тлі ускладненої вагітності.

## МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

На базі «Міський перинатальний центр» Комунального некомерційного підприємства м. Харкова, було відібрано 58 випадків мертвонароджень з терміном гестації 30–

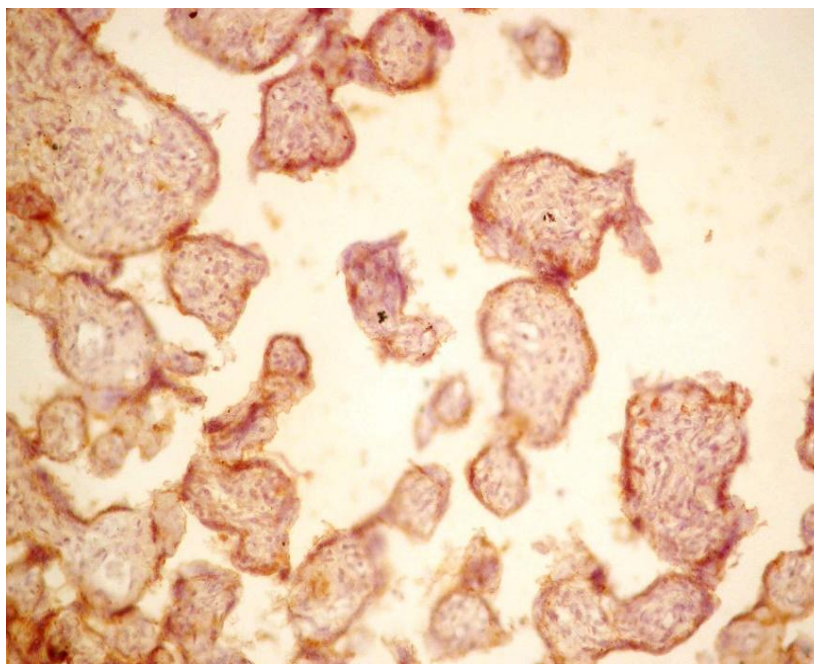
40 тижнів. У першу досліджувану групу (ПЕН) ввійшли 8 випадків із недоношеною вагітністю, яка була ускладнена преєклампсією; у другу групу (ПЕД) – 8 спостережень доношеної вагітності з преєклампсією; у третю групу (АН) – 8 випадків недоношеної вагітності з залізодефіцитною анемією; у четверту (АД) – 8 випадків доношеної вагітності із залізодефіцитною анемією; у п'яту (ХАН) – 10 спостережень недоношеної вагітності з гострим хоріоамніонітом; у шосту (ХАД) – 16 випадків доношеної вагітності з гострим хоріоамніонітом.

Для імуногістохімічного дослідження використовували непрямий імунопероксидазний метод зі системою візуалізації DAKO EnVision (Данія) із використанням МКА до cytokeratin pan (AE-1/AE-3) (DAKO, Denmark) – ідентифікували епітеліальні клітини, а МКА до vimentin (V9) (DAKO, Denmark) – ідентифікували мезенхімальні клітини зі системою візуалізації DAKO EnVision (Данія). Як мітку використовували фермент (пероксидаза хрому), який взаємодіє із субстратом, а як барвник ферменту – хромоген, що взаємодіє з пероксидазою. Мікропрепарати вивчали на мікроскопі Olympus BX-41 (Японія). За допомогою відеомікроскопічної морфометрії з використанням програми Olympus DP-Soft (Version 3:1) і Microsoft Excel, оцінювали рівень експресії кожного маркера в клітинах посліду за допомогою цитофотометричного визначення оптичної щільності їхньої цитоплазми. Кількісні та якісні показники експресії маркерів досліджували як мінімум на 8–10 випадково обраних полях зору мікроскопа гістологічних зрізів за збільшення  $\times 200$  і  $\times 400$ . За допомогою пакета прикладних програм компанії Microsoft Excel та Statistica 6.0 отримані дані обробляли статистично з використанням варіаційного, альтернативного аналізів з обчисленням питомої частки (%), середньої арифметичної, середньоквадратичного відхилення, серед-

ньої помилки середньої арифметичної, достовірності різниці. Для оцінки статистичної значущості відмінностей показників використовували критерій Манна-Уїтні-Уїлкоксона. Для всіх видів аналізу відмінності вважали достовірними у разі  $p < 0.05$ . Дослідження матеріалу автопсій проводилося відповідно до вимог «Інструкції про проведення розтинів» (Наказ МОЗ України № 6 від 17.01.1995); відповідно до вимог, норм та типових положень з питань етики МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р.; «Порядку вилучення біологічних об'єктів у померлих, тіла яких підлягають судово-медичній експертизі і патологоанатомічному дослідженню, для наукових цілей» (2018). Дане дослідження є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи кафедри нормальної анатомії та фізіології людини Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна «Виявлення впливу патології матері на розвиток організму плода та новонародженого», № державної реєстрації 0117U004838 та фінансується згідно плану цієї НДР. Фінансової підтримки з боку компаній-виробників медичного інструментарію і лікарських препаратів автори не отримували.

## РЕЗУЛЬТАТИ

У ворсинах досліджуваної (КГ) групи після проведення імуногістохімічної реакції з МКА до цитокератину виявилось, що цитокератин експресували клітини синцитіотрофобласта. Експресія маркера здебільшого була помірно вираженою, а також спостерігалися групи клітин зі слабо вираженою цитокератин-позитивною реакцією, а в окремих клітинах та/або їхніх групах ПХ реакція мала негативний характер (рис. 1). Рівень експресії цитокератину, який визначався як середнє значення оптичної щільності маркера в цитоплазмі клітин синцитію в середньому становив  $0,179 \pm 0,01$  ум. од.

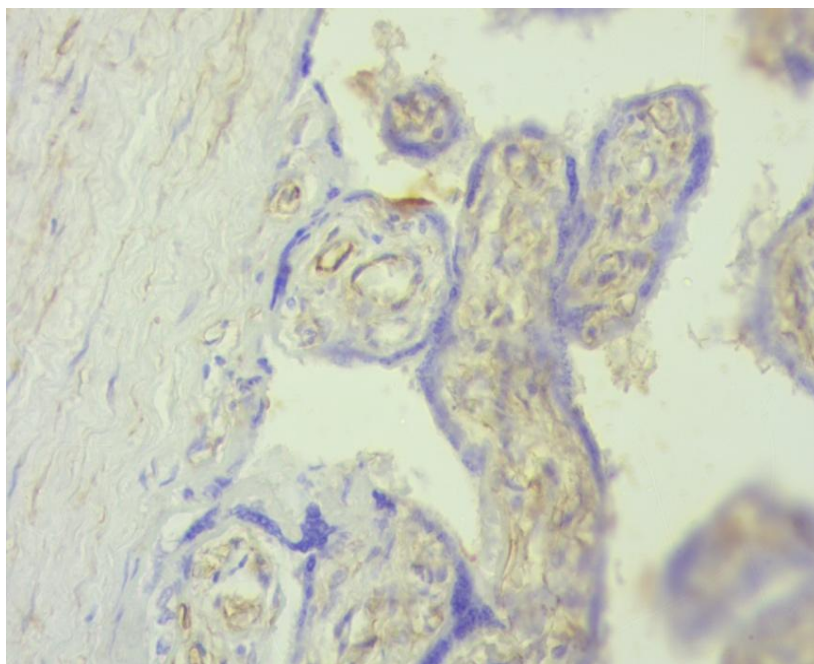


**Рис. 1. Плацента групи КГ. Експресія цитокератину в цитоплазмі клітин синцитіотрофобласта. Імуногістохімічна реакція з МКА до цитокератину,  $\times 200$**

**Fig. 1. Placenta group KG. Cytokeratin expression in the cytoplasm of syncytiotrophoblast cells. Immunohistochemical reaction with MCA to cytokeratin,  $\times 200$**

Під час проведення імуногістохімічної реакції з МКА до віментину виявлялася експресія маркера в цитоплазмі фіброblastів стромы ворсин і ендотелію судин, а також в

окремих клітинах синцитіального епітелію ворсин (рис. 2). Рівень експресії віментину у стромальних клітинах в середньому в групі становив  $0,215 \pm 0,006$  ум. од.

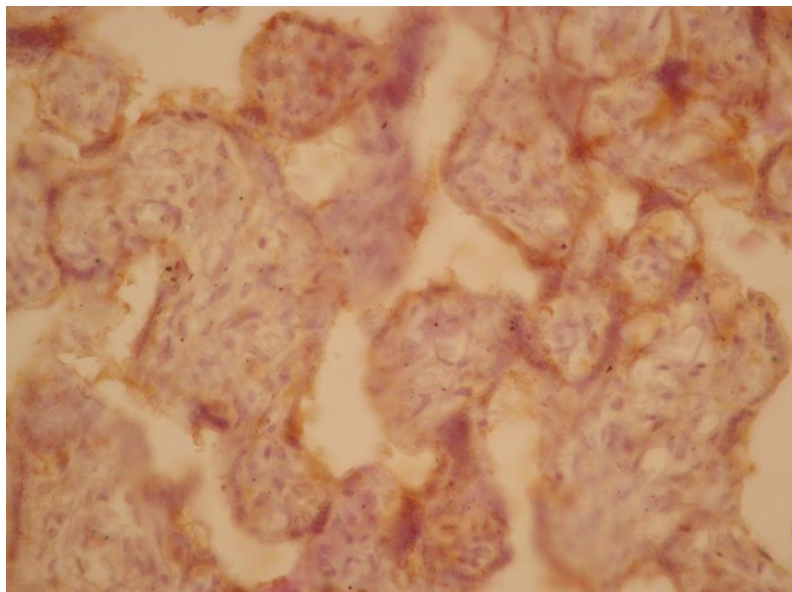


**Рис. 2. Плацента групи КГ. Віментин-позитивні стромальні клітини ворсин хоріона. Імуногістохімічна реакція з МКА до віментину,  $\times 400$**

**Fig. 2. Placenta group KG. Vimentin-positive stromal cells of chorionic villi. Immunohistochemical reaction with MCA to vimentin,  $\times 400$**

У групі з недоношеною вагітністю з преєклампсією ІГХ реакція з МКА до цитокератину виявила, що експресія маркера в клітинах синцитіотрофобласта ворсин була помірно вираженою в епітелії нормальних ворсин і нерівномірно

вираженою або відсутньою в незрілих і склерозованих ворсинах (рис. 3). У середньому в групі рівень експресії цитокератину в клітинах епітелію ворсин становив  $0,224 \pm 0,009$  ум. од.

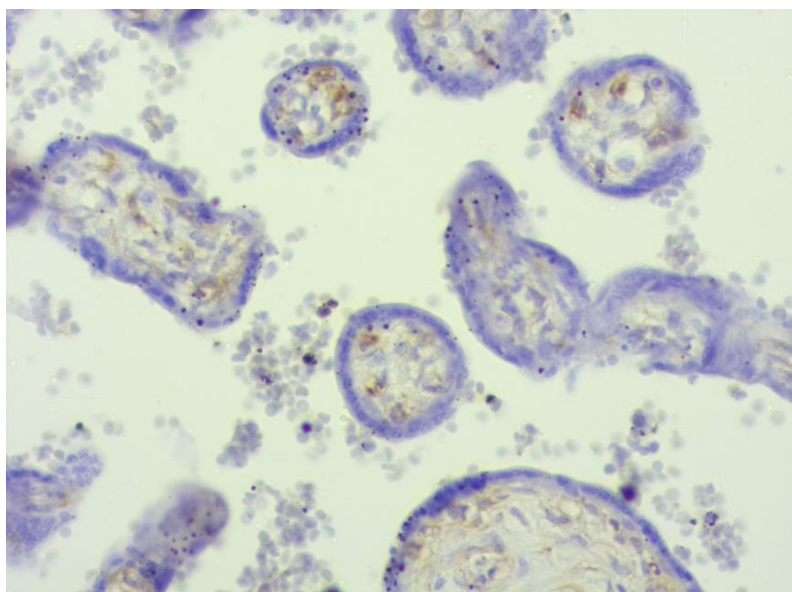


**Рис. 3. Плацента групи ПЕН. Експресія цитокератину в цитоплазмі клітин синцитіотрофобласта. Імуногістохімічна реакція з МКА до цитокератину,  $\times 400$**

**Fig. 3. Placenta of the PEN group. Cytokeratin expression in the cytoplasm of syncytiotrophoblast cells. Immunohistochemical reaction with MCA to cytokeratin,  $\times 400$**

Під час проведення імуногістохімічної реакції з МКА до віментину виявлялася експресія маркера в цитоплазмі фібробластів стромы ворсин і ендотелію судин (рис. 4).

Рівень експресії віментину в клітинах ворсин у середньому в групі становив  $0,180 \pm 0,006$  ум. од.



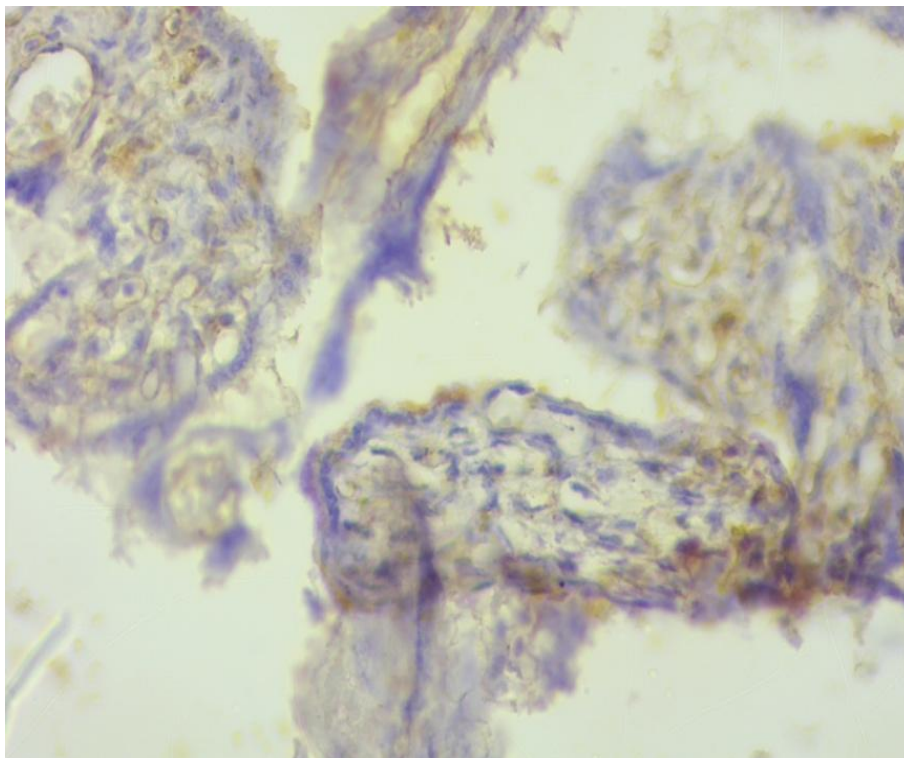
**Рис. 4. Плацента групи ПЕН. Віментин-позитивні стромальні клітини ворсин хоріона. Імуногістохімічна реакція з МКА до віментину,  $\times 400$**

**Fig. 4. Placenta of the PEN group. Vimentin-positive stromal cells of chorionic villi. Immunohistochemical reaction with MCA to vimentin,  $\times 400$**



У групі після доношеної вагітності з преєклампсією ІГХ реакція з МКА до цитокератину виявила, що експресія маркера у клітинах синцитіотрофобласта ворсин була слабкою або помірно вираженою в епітелії нормальних ворсин і нерівномірно вираженою або відсутньою у незрілих і склерозованих ворсинах. У середньому в групі рівень експресії цитокератину в клітинах епітелію ворсин становив  $0,158 \pm 0,002$  ум. од.

Під час проведення імуногістохімічної реакції з МКА до віментину виявлялася експресія маркера в цитоплазмі фібробластів строми ворсин і ендотелію судин, а також в деяких клітинах синцитіотрофобласта (рис. 5). Рівень експресії віментину в клітинах ворсин у середньому в групі становив  $0,268 \pm 0,010$  ум. од.



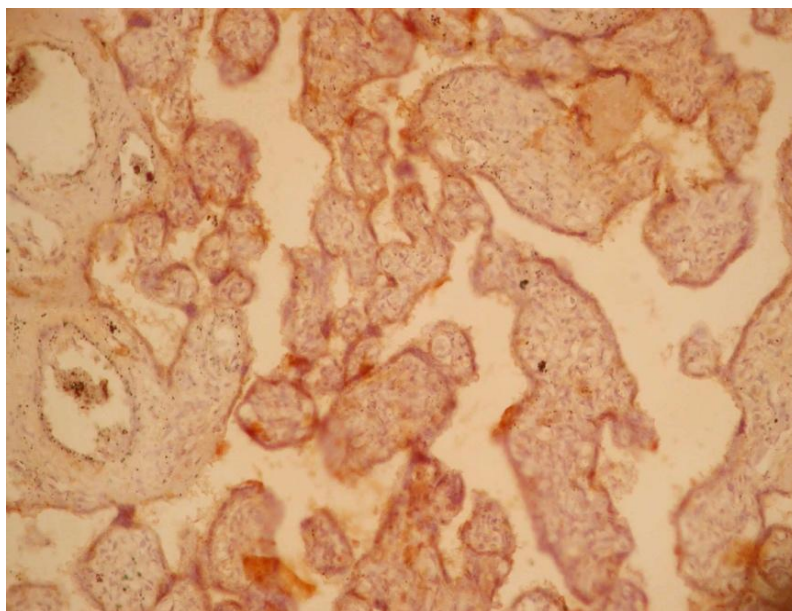
**Рис. 5. Плацента групи ПЕД. Віментин-позитивні стромальні клітини ворсин хоріона. Імуногістохімічна реакція з МКА до віментину,  $\times 400$**

**Fig. 5. Placenta of the PED group. Vimentin-positive stromal cells of chorionic villi. Immunohistochemical reaction with MCA to vimentin,  $\times 400$**

У групі після недоношеної вагітності із залізодефіцитною анемією ІГХ реакція з МКА до цитокератину виявила експресію маркера в цитоплазмі клітин синцитіотрофобласта ворсин. Інтенсивність реакції була вираженою в епітелії нормально

утворених ворсин і нерівномірно вираженою або відсутньою в незрілих і склерозованих ворсинах (рис. 6).

У середньому в групі рівень експресії цитокератину в клітинах епітелію ворсин становив  $0,327 \pm 0,008$  ум. од.



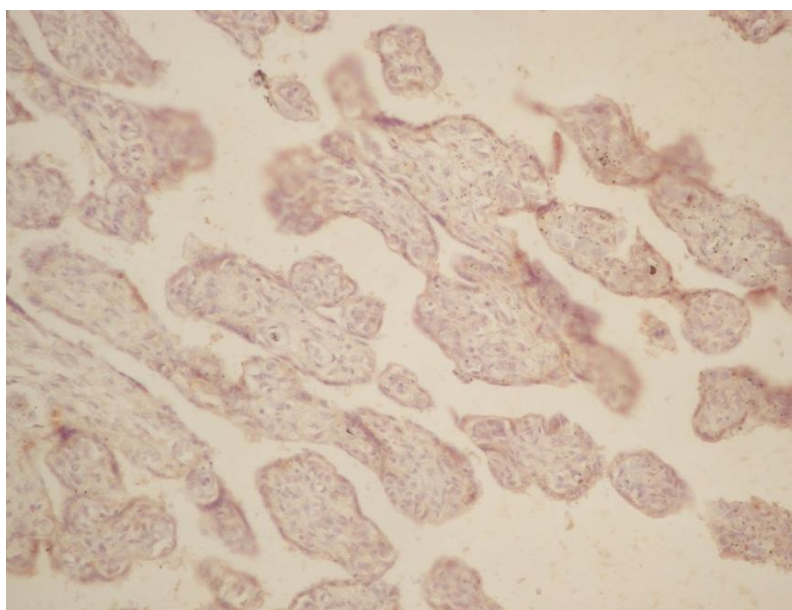
**Рис. 6. Плацента групи АН. Експресія цитокератину в цитоплазмі клітин синцитіотрофобласта. Імуногістохімічна реакція з МКА до цитокератину,  $\times 200$**

**Fig. 6. Placenta of the AN group. Cytokeratin expression in the cytoplasm of syncytiotrophoblast cells. Immunohistochemical reaction with MCA to cytokeratin,  $\times 200$**

Під час проведення імуногістохімічної реакції з МКА до віментину виявлялася експресія маркера в цитоплазмі фіброblastів стромы ворсин і ендотелію судин. Рівень експресії віментину в клітинах ворсин у середньому в групі становив  $0,175 \pm 0,01$  ум. од.

У групі після доношеної вагітності із залізодефіцитною анемією ІГХ реакція з

МКА до цитокератину виявила слабку експресію маркера в цитоплазмі клітин синцитіотрофобласта нормально сформованих ворсин і негативну в незрілих і склерозованих ворсинах (рис. 7). У середньому в групі рівень експресії цитокератину в клітинах епітелію ворсин становив  $0,171 \pm 0,010$  ум. од.



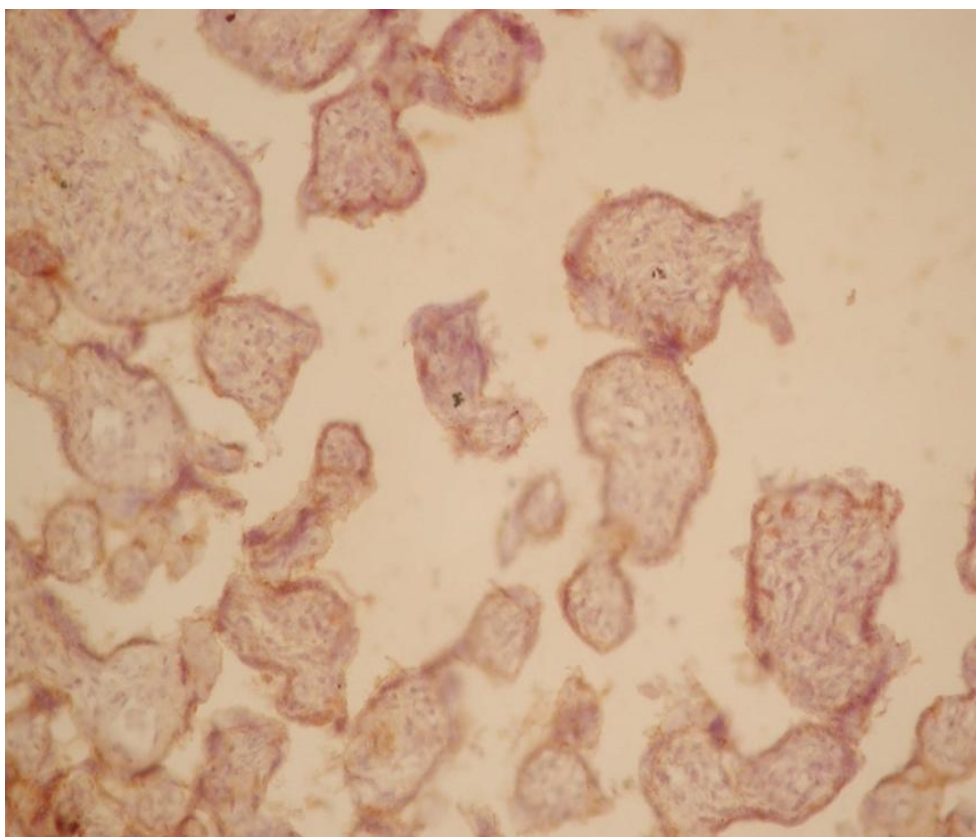
**Рис. 7. Плацента групи АД. Експресія цитокератину в цитоплазмі клітин синцитіотрофобласта. Імуногістохімічна реакція з МКА до цитокератину,  $\times 200$**

**Fig. 7. Placenta group AD. Cytokeratin expression in the cytoplasm of syncytiotrophoblast cells. Immunohistochemical reaction with MCA to cytokeratin,  $\times 200$**

Під час проведення імуногістохімічної реакції з МКА до віментину виявлялася експресія маркера в цитоплазмі фібробластів строми ворсин і ендотелію судин, а також у групах клітин синцитію. Рівень експресії віментину в клітинах ворсин у середньому в групі становив  $0,254 \pm 0,015$  ум. од.

У групі після недоношеної вагітності з хоріоамніонітом ІГХ реакція з МКА до

цитокератину виявила експресію маркера в цитоплазмі клітин синцитіотрофобласта ворсин. Інтенсивність реакції була помірно вираженою в епітелії нормально сформованих ворсин і слабо вираженою або відсутньою в незрілих і склерозованих ворсинах (рис. 8). У середньому в групі рівень експресії цитокератину в клітинах епітелію ворсин становив  $0,211 \pm 0,010$  ум. од.



**Рис. 8. Плацента групи ХАН. Експресія цитокератину в цитоплазмі клітин синцитіотрофобласта. Імуногістохімічна реакція з МКА до цитокератину,  $\times 200$**

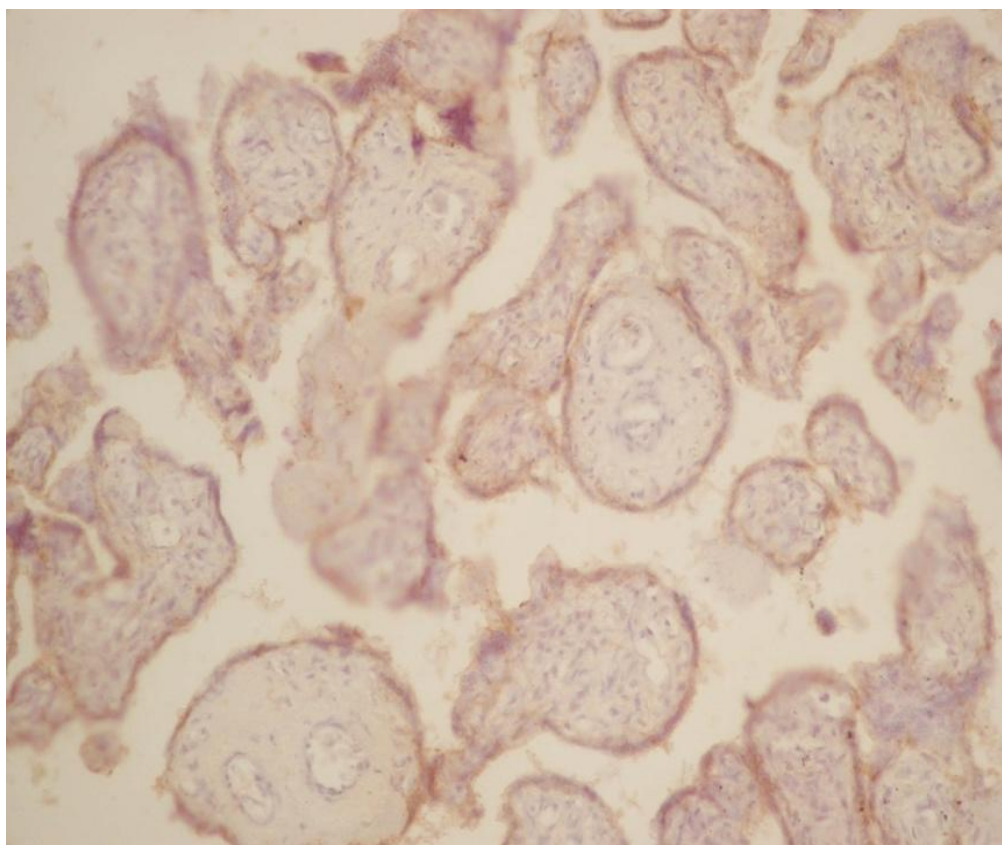
**Fig. 8. Placenta of the KHAN group. Cytokeratin expression in the cytoplasm of syncytiotrophoblast cells. Immunohistochemical reaction with MCA to cytokeratin,  $\times 200$**

Під час проведення імуногістохімічної реакції з МКА до віментину виявлялася експресія маркера в цитоплазмі фібробластів строми ворсин і ендотелію судин. Рівень експресії віментину в клітинах ворсин у середньому в групі становив  $0,196 \pm 0,009$  ум. од.

У групі після доношеної вагітності з хоріоамніонітом ІГХ реакція з МКА до

цитокератину виявила експресію маркера в цитоплазмі клітин синцитіотрофобласта ворсин. Інтенсивність реакції була слабо вираженою в епітелії нормальних ворсин і слабо вираженою або відсутньою в незрілих і склерозованих ворсинах (рис. 9). У середньому в групі рівень експресії цитокератину в клітинах епітелію ворсин становив  $0,138 \pm 0,01$  ум. од.





**Рис. 9.** Плацента групи ХАД. Зниження експресії цитокератину в цитоплазмі клітин синцитіотрофобласта. Імуногістохімічна реакція з МКА до цитокератину,  $\times 200$

**Fig. 9.** Placenta of the HAD group. Decreased expression of cytokeratin in the cytoplasm of syncytiotrophoblast cells. Immunohistochemical reaction with MCA to cytokeratin,  $\times 200$

Під час проведення імуногістохімічної реакції з МКА до віментину виявлялася експресія маркера в цитоплазмі фіброblastів строми ворсин і ендотелію судин, а також у деяких клітинах синцитію. Рівень експресії віментину в клітинах ворсин у середньому в групі становив  $0,289 \pm 0,007$  ум. од.

### **ОБГОВОРЕННЯ**

У контрольній та клінічних групах, під час ІГХ реакції з МКА до цитокератину у ворсинах, експресія маркера визначалася у клітинах синцитіотрофобласта. У групі КГ експресія цитокератину здебільшого в клітинах була помірно вираженою; також спостерігалися групи клітин зі слабо вираженою цитокератин-позитивною реакцією, а окремі клітини та/або їхні групи

давали цитокератин-негативну реакцію. У клінічних групах із недоношеною вагітністю інтенсивність реакції була добре вираженою у епітелії нормальних ворсин і нерівномірно вираженою або відсутньою у незрілих і склерозованих ворсинах. Рівень експресії цитокератину епітелієм ворсин у цих групах був значуще більшим порівняно з групою КГ (таб. 1). У групах із доношеною вагітністю інтенсивність ІГХ реакції була слабо вираженою в епітелії нормальних ворсин і слабо вираженою або відсутньою в незрілих і склерозованих ворсинах. Рівень експресії цитокератину епітелієм ворсин у цих групах був значуще меншим порівняно як з групою КГ, так і з недоношеною вагітністю у разі аналогічної патології.

**Морфометричні показники імуногістохімічних реакцій у ворсинах хоріона у клінічних і контрольній групах (M ± m)**

**Morphometric indicators of immunohistochemical reactions in chorionic villi in clinical and control groups (M ± m)**

Рівень експресії цитокератину епітелієм ворсин, ум. од.св.						
ПЕН (n = 8)	ПЕД (n = 8)	АН (n = 8)	АД (n = 8)	ХАН (n = 10)	ХАД (n = 16)	КГ (n = 8)
0,224 ± 0,009#	0,158 ± 0,002*#	0,327 ± 0,008#	0,171 ± 0,005*#	0,211 ± 0,010#	0,138 ± 0,01*#	0,179 ± 0,008
Рівень експресії віментину у клітинах ворсин, ум. од.св.						
ПЕН (n = 8)	ПЕД (n = 8)	АН (n = 8)	АД (n = 8)	ХАН (n = 10)	ХАД (n = 16)	КГ (n = 8)
0,180 ± 0,006#	0,268 ± 0,010*#	0,175 ± 0,01#	0,254 ± 0,015*#	0,196 ± 0,009	0,289 ± 0,007*#	0,215 ± 0,006

Примітка: \* – значимість відмінностей між групами з недоношеною і доношеною вагітністю у разі аналогічної патології, p < 0,05; # – значимість відмінностей порівняно з КГ, p < 0,05.

Note: \* – significance of differences between groups with preterm and full-term pregnancy in case of similar pathology, p < 0.05; # – significance of differences compared to CG, p < 0.05.

Під час проведення ІГХ реакції з МКА до віментину, у групі КГ і клінічних групах експресія маркера виявлялася в цитоплазмі фібробластів строми ворсин і ендотелію судин у контрольній та клінічних групах із доношеною вагітністю, а також в окремих клітинах синцитіального епітелію ворсин. Як відомо, віментин є маркером мезенхімальних клітин, тому позитивна реакція з МКА до віментину свідчить про наявність епітеліально-мезенхімальний трансформації синцитіального епітелію, яка відбувається на пізніх термінах гестації, що узгоджується з даними інших дослідників [25]. У клінічних групах із доношеною вагітністю рівень експресії віментину в мезенхімальних клітинах ворсин достовірно збільшувався порівняно з клінічними групами з аналогічною патологією недоношеності та порівняно з групою КГ. У групах ПЕН та АН рівень експресії віментину був достовірно меншим, у групі ХАН – мав тенденцію до зменшення порівняно з групою КГ.

**ВИСНОВКИ**

У досліджуваній групі з преєклампсією, відбувається епітеліально-мезенхімальна

трансформація, у ворсинах хоріона при доношеній вагітності, синцитіального епітелію та достовірно знижується експресія цитокератину та достовірно підвищується експресія віментину мезенхімальними клітинами, що означає посилення склерозування ворсин в умовах хронічної гіпоксії під час преєклампсії. Дослідження групи з залізодефіцитною анемією виявило, що у ворсинах хоріона у разі доношеної вагітності лише деякі клітини синцитіального епітелію набувають мезенхімальних властивостей. Достовірно підвищується експресія віментину в мезенхімальних клітинах ворсин, експресія цитокератину значує менше, що означає посилення склерозування ворсин в умовах хронічної гіпоксії під час залізодефіцитної анемії. У ворсинах хоріона досліджуваній групі з хоріоамніонітом у разі доношеної вагітності достовірно знижується експресія цитокератину та достовірно підвищується експресія віментину мезенхімальними клітинами що свідчить про активацію синцитіальних клітин, які зазнали епітеліально-мезенхімальної трансформації.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Giannakou K. Perinatal epidemiology: Issues, challenges, and potential solutions. *Obstet Med.* 2021 Jun;14(2):77-82. DOI: <https://doi.org/10.1177/1753495X20948984>
2. WHO Global Maternal Sepsis Study (GLOSS) Research Group. Frequency and management of maternal infection in health facilities in 52 countries (GLOSS): a 1-week inception cohort study. *Lancet Glob Health.* 2020 May;8(5):e661-e671. DOI: [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(20\)30109-1](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(20)30109-1)
3. Okafor O, Roos N, Abdosh AA, Adesina O, Alaoui Z, Romero WA, et. al. International virtual confidential reviews of infection-related maternal deaths and near-miss in 11 low- and middle-income countries - case report series and suggested actions. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2022 May 23; 22(1): 431. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12884-022-04731-x>
4. Enjamo M, Deribew A, Semagn S, Mareg M. Determinants of Premature Rupture of Membrane (PROM) Among Pregnant Women in Southern Ethiopia: A Case-Control Study. *Int J Womens Health.* 2022 Mar 31;14:455-466. DOI: <https://doi.org/10.2147/IJWH.S352348>
5. Ghafoor S. Current and Emerging Strategies for Prediction and Diagnosis of Prelabour Rupture of the Membranes: A Narrative Review. *Malays J Med Sci.* 2021 Jun;28(3):5-17. DOI: <https://doi.org/10.21315/mjms2021.28.3.2>
6. Wang YX, Mínguez-Alarcón L, Gaskins AJ, Missmer SA, Rich-Edwards JW, Manson JE, Pan A, Chavarro JE. Association of spontaneous abortion with all cause and cause specific premature mortality: prospective cohort study. *BMJ.* 2021 Mar 24;372:n530. DOI: <https://doi.org/10.1136/bmj.n530>
7. Chan MY, Smith MA. Infections in Pregnancy. *Comprehensive Toxicology.* 2018:232–49. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.64293-9>
8. Vousden N, Lawley E, Seed PT, Gidiri MF, Goudar S, Sandall J, Chappell LC, Shennan AH; CRADLE Trial Collaborative Group. Incidence of eclampsia and related complications across 10 low- and middle-resource geographical regions: Secondary analysis of a cluster randomised controlled trial. *PLoS Med.* 2019 Mar 29;16(3):e1002775. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002775>
9. Zhang Q, Lu XM, Zhang M, Yang CY, Lv SY, Li SF, Zhong CY, Geng SS. Adverse effects of iron deficiency anemia on pregnancy outcome and offspring development and intervention of three iron supplements. *Sci Rep.* 2021 Jan 14;11(1):1347. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-79971-y>
10. Ota E, da Silva Lopes K, Middleton P, Flenady V, Wariki WM, Rahman MO, Tobe-Gai R, Mori R. Antenatal interventions for preventing stillbirth, fetal loss and perinatal death: an overview of Cochrane systematic reviews. *Cochrane Database Syst Rev.* 2020 Dec 18;12(12):CD009599. DOI: <https://doi.org/10.1002/14651858.CD009599.pub2>
11. Menon R, Richardson LS, Lappas M. Fetal membrane architecture, aging and inflammation in pregnancy and parturition. *Placenta.* 2019 Apr;79:40-45. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2018.11.003>
12. Bhunia S, O'Brien S, Ling Y, Huang Z, Wu P, Yang Y. New approaches suggest term and preterm human fetal membranes may have distinct biomechanical properties. *Sci Rep.* 2022 Mar 24;12(1):5109. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-09005-2>
13. Chai M, Walker SP, Riley C, Rice GE, Permezel M, Lappas M. Effect of supracervical apposition and spontaneous labour on apoptosis and matrix metalloproteinases in human fetal membranes. *Biomed Res Int.* 2013;2013:316146. DOI: <https://doi.org/10.1155/2013/316146>
14. Menon R. Human fetal membranes at term: Dead tissue or signalers of parturition? *Placenta.* 2016 Aug;44:1-5. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2016.05.013>
15. Menon R, Richardson LS. Preterm prelabour rupture of the membranes: A disease of the fetal membranes. *Semin Perinatol.* 2017 Nov; 41 (7): 409–419. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.semperi.2017.07.012>
16. Zhao D, Zhang C, Ma J, Li J, Li Z, Huo C. Risk factors for iron deficiency and iron deficiency anemia in pregnant women from plateau region and their impact on pregnancy outcome. *Am J Transl Res.* 2022 Jun 15; 14 (6): 4146–4153.
17. Garrido-Gomez T, Ona K, Kapidzic M, Gormley M, Simón C, Genbacev O, Fisher SJ. Severe pre-eclampsia is associated with alterations in cytotrophoblasts of the smooth chorion. *Development.* 2017 Mar 1;144(5):767-777. DOI: <https://doi.org/10.1242/dev.146100>
18. Konwar C, Price EM, Wang LQ, Wilson SL, Terry J, Robinson WP. DNA methylation profiling of acute chorioamnionitis-associated placentas and fetal membranes: insights into epigenetic variation in spontaneous preterm births. *Epigenetics Chromatin.* 2018 Oct 29;11(1):63. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13072-018-0234-9>
19. Menon R, Peltier MR. Novel Insights into the Regulatory Role of Nuclear Factor (Erythroid-Derived 2)-Like 2 in Oxidative Stress and Inflammation of Human Fetal Membranes. *Int J Mol Sci.* 2020 Aug 26;21(17):6139. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21176139>

20. Bakalis S, David AL. Successful outcome after spontaneous first trimester intra-amniotic haematoma and early preterm premature rupture of membranes. *BMJ Case Rep.* 2018 Nov 28;11(1):e224596. DOI: <https://doi.org/10.1136/bcr-2018-224596>
21. Qin ZJ, Xu Y, Du Y, Chen YL, Sun L, Zheng A. Intrauterine Hematoma in the First Trimester and Pregnancy Complications: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Med (Lausanne).* 2022 Jun 17;9:892146. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmed.2022.892146>
22. El-Sheikh Ali H, Loux SC, Kennedy L, Scoggin KE, Dini P, Fedorka CE, Kalbfleisch TS, Esteller-Vico A, Horohov DW, Erol E, Carter CN, Smith JL, Ball BA. Transcriptomic analysis of equine chorioallantois reveals immune networks and molecular mechanisms involved in nocardioform placentitis. *Vet Res.* 2021 Jul 8;52(1):103. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13567-021-00972-4>
23. Menon R, Behnia F, Polettini 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 Aug;42(4):431-450. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00281-020-00808-x>
24. Lim R, Lappas M. Expression and function of macrophage-inducible C-type lectin (Mincle) in inflammation driven parturition in fetal membranes and myometrium. *Clin Exp Immunol.* 2019 Jul; 197(1): 95–110. DOI: <https://doi.org/10.1111/cei.13281>
25. Chen T, You Y, Jiang H, Wang ZZ. Epithelial-mesenchymal transition (EMT): A biological process in the development, stem cell differentiation, and tumorigenesis. *J Cell Physiol.* 2017 Dec; 232(12): 3261–3272. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcp.25797>

*Отримано: 11.01.2023 року  
Прийнято до друку: 14.03.2023 року*

*Конфлікт інтересів: відсутній.*

---

**Olha Zats**<sup>A, B, C, D, E</sup>, **Sergey Sherstiuk**<sup>A, C, F</sup>, **Ruslan Sydorenko**<sup>A, C, F</sup>, **Liudmila Sherstiuk**<sup>C, F</sup>, **Stanislav Panov**<sup>A, C, F</sup>

#### **EXPRESSION OF CYTOKERATIN AND VIMENTIN IN VILLI OF THE CHORION WITH ANTEINTRANATAL FETAL DEATH ON THE BACKGROUND OF COMPLICATED PREGNANCY**

A – research concept and design; B – collection and/or assembly of data; C – data analysis and interpretation; D – writing the article; E – critical revision of the article; F – final approval of the article

---

**Abstract.** Approximately 3–10 % of all pregnancies are complicated by premature rupture of membranes (PRM). Pregnancy in the presence of preeclampsia, gestational iron deficiency anemia, and acute chorioamnionitis increases the risk of PRM development. These complications of pregnancy are etiologically related to the factors causing PRM, the most important of which are oxidative stress with the subsequent development of sterile inflammation, droplet bleeding with the formation of a posterior placental hematoma, and inflammation of the placenta and fetal membranes.

**Aim.** To determine the expression of cytokeratin and vimentin in chorionic villi with ante-intranatal death of fetuses against the background of complicated pregnancy.

**Materials and methods.** The first studied group included 8 cases of PEN; in the second group – 8 PED observations; in the third group – 8 cases of AN; on the fourth – 8 cases of AD; in the fifth – 10 observations of KHAN; in the sixth – 16 cases of HAD. For the immunohistochemical (IGH) study, an indirect immunoperoxidase method was used using MCA for cytokeratin pan (AE-1/AE-3) (DAKO, Denmark) – epithelial cells were identified, and MCA for vimentin (V9) (DAKO, Denmark) - mesenchymal cells were identified cells

**Results.** In clinical groups with preterm pregnancy, the intensity of the reaction was well expressed in the epithelium of normal villi and unevenly expressed or absent in immature and sclerosed villi. The level of expression of cytokeratin by the epithelium of the villi in these groups was significantly higher compared to the CG group. In the groups with full-term pregnancy, the intensity of the IHC reaction was weakly expressed in the epithelium of normal villi and weakly expressed or absent in immature and sclerosed villi. The level of expression of cytokeratin by the epithelium of the villi in these groups was significantly lower compared to both the CG group and premature pregnancy in the case of similar pathology. In clinical groups with full-term pregnancy, the expression level of vimentin in mesenchymal cells of villi increased significantly compared to clinical groups with similar pathology of prematurity and compared to the CG group.



**Conclusions.** In the villi of the chorion, some cells of the syncytial epithelium are transformed into mesenchymal cells with fibroblast-like properties, which can be confirmed by the appearance of vimentin-positive epithelial cells in the syncytiotrophoblast of the villi.

**KEY WORDS:** *Chorion villi, cytokeratin, vimentin, mesenchymal cells, ante-intranatal death, immunohistochemistry*

#### **INFORMATION ABOUT AUTHORS**

**Olha Zats**, PhD student of the Department of Human Anatomy and Physiology, School of Medicine, V. N. Karazin Kharkiv National University, 6, Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022; e-mail: olgse@ukr.net, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4005-4428>

**Sergey Sherstiuk**, MD, PhD, Full Professor, Head of Department of Human Anatomy and Physiology, School of Medicine, V. N. Karazin Kharkiv National University, 6, Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022; e-mail: sergeysherstyuk@karazin.ua, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6062-7962>

**Ruslan Sydorenko**, PhD, Associate Professor, Department of Human Anatomy and Physiology, School of Medicine, V. N. Karazin Kharkiv National University, 4, Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022; e-mail: Sidorenko.v1277@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-4442-4924>

**Liudmila Sherstiuk**, PhD, Associate Professor, Head of Department of General Practice - Family Medicine, School of Medicine, V. N. Karazin Kharkiv National University, 4, Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2993-2843>

**Stanislav Panov**, Assistant of Department of Human Anatomy and Physiology, V. N. Karazin Kharkiv National University, School of Medicine, 4, Svobody Sq., Kharkiv, Ukraine, 61022; e-mail: StanislavPanov@karazin.ua, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9264-0088>

#### **For citation:**

**Zats O, Sherstiuk S, Sydorenko R, Sherstiuk L, Panov S.** EXPRESSION OF CYTOKERATIN AND VIMENTIN IN VILLI OF THE CHORION WITH ANTEINTRANATAL FETAL DEATH ON THE BACKGROUND OF COMPLICATED PREGNANCY. The Journal of V.N. Karazin Kharkiv National University. Series «Medicine». 2023;46:43–56. DOI: [10.26565/2313-6693-2023-46-05](https://doi.org/10.26565/2313-6693-2023-46-05) (in Ukrainian)

#### **REFERENCES**

1. Giannakou K. Perinatal epidemiology: Issues, challenges, and potential solutions. *Obstet Med.* 2021 Jun;14(2):77-82. DOI: <https://doi.org/10.1177/1753495X20948984>
2. WHO Global Maternal Sepsis Study (GLOSS) Research Group. Frequency and management of maternal infection in health facilities in 52 countries (GLOSS): a 1-week inception cohort study. *Lancet Glob Health.* 2020 May;8(5):e661-e671. DOI: [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(20\)30109-1](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(20)30109-1)
3. Okafor O, Roos N, Abdosh AA, Adesina O, Alaoui Z, Romero WA, et. al. International virtual confidential reviews of infection-related maternal deaths and near-miss in 11 low- and middle-income countries - case report series and suggested actions. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2022 May 23; 22 (1): 431. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12884-022-04731-x>
4. Enjamo M, Deribew A, Semagn S, Mareg M. Determinants of Premature Rupture of Membrane (PROM) Among Pregnant Women in Southern Ethiopia: A Case-Control Study. *Int J Womens Health.* 2022 Mar 31;14:455-466. DOI: <https://doi.org/10.2147/IJWH.S352348>
5. Ghafoor S. Current and Emerging Strategies for Prediction and Diagnosis of Prelabour Rupture of the Membranes: A Narrative Review. *Malays J Med Sci.* 2021 Jun;28(3):5-17. DOI: <https://doi.org/10.21315/mjms2021.28.3.2>
6. Wang YX, Mínguez-Alarcón L, Gaskins AJ, Missmer SA, Rich-Edwards JW, Manson JE, Pan A, Chavarro JE. Association of spontaneous abortion with all cause and cause specific premature mortality: prospective cohort study. *BMJ.* 2021 Mar 24;372:n530. DOI: <https://doi.org/10.1136/bmj.n530>
7. Chan MY, Smith MA. Infections in Pregnancy. *Comprehensive Toxicology.* 2018:232–49. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.64293-9>
8. Vousden N, Lawley E, Seed PT, Gidiri MF, Goudar S, Sandall J, Chappell LC, Shennan AH; CRADLE Trial Collaborative Group. Incidence of eclampsia and related complications across 10 low- and middle-resource geographical regions: Secondary analysis of a cluster randomised controlled trial. *PLoS Med.* 2019 Mar 29;16(3):e1002775. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002775>
9. Zhang Q, Lu XM, Zhang M, Yang CY, Lv SY, Li SF, Zhong CY, Geng SS. Adverse effects of iron deficiency anemia on pregnancy outcome and offspring development and intervention of three iron supplements. *Sci Rep.* 2021 Jan 14;11(1):1347. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-79971-y>
10. Ota E, da Silva Lopes K, Middleton P, Flenady V, Wariki WM, Rahman MO, Tobe-Gai R, Mori R. Antenatal interventions for preventing stillbirth, fetal loss and perinatal death: an overview of Cochrane

- systematic reviews. *Cochrane Database Syst Rev.* 2020 Dec 18;12(12):CD009599. DOI: <https://doi.org/10.1002/14651858.CD009599.pub2>
11. Menon R, Richardson LS, Lappas M. Fetal membrane architecture, aging and inflammation in pregnancy and parturition. *Placenta.* 2019 Apr;79:40-45. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2018.11.003>
  12. Bhunia S, O'Brien S, Ling Y, Huang Z, Wu P, Yang Y. New approaches suggest term and preterm human fetal membranes may have distinct biomechanical properties. *Sci Rep.* 2022 Mar 24;12(1):5109. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-09005-2>
  13. Chai M, Walker SP, Riley C, Rice GE, Permezel M, Lappas M. Effect of supracervical apposition and spontaneous labour on apoptosis and matrix metalloproteinases in human fetal membranes. *Biomed Res Int.* 2013;2013:316146. DOI: <https://doi.org/10.1155/2013/316146>
  14. Menon R. Human fetal membranes at term: Dead tissue or signalers of parturition? *Placenta.* 2016 Aug;44:1-5. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2016.05.013>
  15. Menon R, Richardson LS. Preterm prelabor rupture of the membranes: A disease of the fetal membranes. *Semin Perinatol.* 2017 Nov;41(7):409-419. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.semper.2017.07.012>
  16. Zhao D, Zhang C, Ma J, Li J, Li Z, Huo C. Risk factors for iron deficiency and iron deficiency anemia in pregnant women from plateau region and their impact on pregnancy outcome. *Am J Transl Res.* 2022 Jun 15;14(6):4146-4153.
  17. Garrido-Gomez T, Ona K, Kapidzic M, Gormley M, Simón C, Genbacev O, Fisher SJ. Severe pre-eclampsia is associated with alterations in cytotrophoblasts of the smooth chorion. *Development.* 2017 Mar 1;144(5):767-777. DOI: <https://doi.org/10.1242/dev.146100>
  18. Konwar C, Price EM, Wang LQ, Wilson SL, Terry J, Robinson WP. DNA methylation profiling of acute chorioamnionitis-associated placentas and fetal membranes: insights into epigenetic variation in spontaneous preterm births. *Epigenetics Chromatin.* 2018 Oct 29;11(1):63. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13072-018-0234-9>
  19. Menon R, Peltier MR. Novel Insights into the Regulatory Role of Nuclear Factor (Erythroid-Derived 2)-Like 2 in Oxidative Stress and Inflammation of Human Fetal Membranes. *Int J Mol Sci.* 2020 Aug 26;21(17):6139. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21176139>
  20. Bakalis S, David AL. Successful outcome after spontaneous first trimester intra-amniotic haematoma and early preterm premature rupture of membranes. *BMJ Case Rep.* 2018 Nov 28;11(1):e224596. DOI: <https://doi.org/10.1136/bcr-2018-224596>
  21. Qin ZJ, Xu Y, Du Y, Chen YL, Sun L, Zheng A. Intrauterine Hematoma in the First Trimester and Pregnancy Complications: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Med (Lausanne).* 2022 Jun 17;9:892146. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmed.2022.892146>
  22. El-Sheikh Ali H, Loux SC, Kennedy L, Scoggin KE, Dini P, Fedorka CE, Kalbfleisch TS, Esteller-Vico A, Horohov DW, Erol E, Carter CN, Smith JL, Ball BA. Transcriptomic analysis of equine chorioallantois reveals immune networks and molecular mechanisms involved in nocardioform placentitis. *Vet Res.* 2021 Jul 8;52(1):103. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13567-021-00972-4>
  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 Aug;42(4):431-450. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00281-020-00808-x>
  24. Lim R, Lappas M. Expression and function of macrophage-inducible C-type lectin (Mincle) in inflammation driven parturition in fetal membranes and myometrium. *Clin Exp Immunol.* 2019 Jul;197(1):95-110. DOI: <https://doi.org/10.1111/cei.13281>
  25. Chen T, You Y, Jiang H, Wang ZZ. Epithelial-mesenchymal transition (EMT): A biological process in the development, stem cell differentiation, and tumorigenesis. *J Cell Physiol.* 2017 Dec; 232 (12): 3261–3272. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcp.25797>

*Received: 0.11.2023*  
*Accepted: 03.14.2023*

*Conflicts of interest: author has no conflict of interest to declare.*