

*Мишалов В.Д., Петрошак А.Ю., Хохолева Т.В., Попов В.А.*

### ОСОБЕННОСТИ ДЛИННОЙ ТРУБЧАТОЙ КОСТИ, СОЗДАННОЙ ИЗ КОМПОЗИТНЫХ МАТЕРИАЛОВ, ДЛЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

**Резюме.** В статье изложены методологические подходы относительно создания модели длинной трубчатой кости из композитных материалов и сравнительный анализ биофизических свойств модели и самой трубчатой кости.

**Ключевые слова:** судебная медицина, имитаторы биологических объектов, модель длинной трубчатой кости, композитные материалы.

*Mishalov V., Petroshak O., Hoholeva T., Popov V.*

### FEATURES OF LONG BONE TRUBCHASTOY CREATED FROM COMPOSITE MATERIALS FOR EXPERIMENTAL RESEARCH

**Summary.** For the purpose of conducting experimental research in forensic medicine proposes the creation of a model of a long bone made of composite materials and a comparative analysis of the biophysical properties of model and native bone.

**Key words:** forensic medicine, simulators of biological objects, composit materials.

*Рецензент - д.мед.н., проф. Гунас І.В.*

*Стаття надійшла до редакції 30.11.2016р.*

*Мишалов Володимир Дем'янович* - д.мед.н., проф., зав. кафедри судової медицини НМАПО імені П.Л. Шупика; +38(044)4404771; k-sme@nmapo.edu.ua

*Петрошак Олександр Юрійович* - к.мед.н., доц., доц. кафедри судової медицини НМАПО імені П.Л. Шупика; +38(044)4404771

*Хохолева Тамара Володимирівна* - к.мед.н., доц., доц. кафедри судової медицини НМАПО імені П.Л. Шупика; +38(044)4404771

*Попов Василь Антонович* - д.мед.н., проф., проф. кафедри ортопедії і травматології №2 НМАПО імені П.Л. Шупика; +38(044)4404771

© Konkov D.G.

UDC: 618.39-021.3: 612.133: 612.118.24

*Konkov D.G.*

National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya, Department obstetrics and gynecology №1 (Pyrogov Str., 56, Vinnytsya, 21018, Ukraine)

## PLACENTAL EXPRESSION OF PLASMINOGEN ACTIVATOR INHIBITOR-1 AND TISSUE- TYPE PLASMINOGEN ACTIVATORS IN GESTATIONAL ENDOTHELIOPATHY

**Summary.** The fibrinolytic imbalance might have a pivotal role in hypercoagulability seen in gestational endotheliopathy. Our objective was to determine the novel fibrinolytic markers of blood coagulation related factors in placental tissue in preeclamptic and normal pregnancies. 61 specimens of the placental tissues were obtained after delivery at physiological pregnancy, gestational endotheliopathy and preeclampsia. There were investigated placental expressions of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) and tissue- type plasminogen activators (t-PA). It was found that preeclampsia was accompanied by the significant decrease of the placental expression of t-PA and increase placental levels of PAI-1.

**Key words:** gestational endotheliopathy, preeclampsia, placenta, PAI-1, t-PA.

### Introduction

Preeclampsia (PE) complicates 2-3% of all pregnancies (5-7% in nulliparous women) and remains a leading cause of maternal and perinatal mortality and morbidity in Ukraine and internationally. PE is a disorder of pregnancy associated with widespread vascular malfunction and vasospasm. There is evolving evidence that both the degree of impaired placentation and the incidence of adverse fetal and maternal short- and long-term consequences of preeclampsia are inversely related to the gestational age at onset of the disease. Attention has been focused on the link between endothelial damage and PE. Endothelial cell damage or activation is believed to play a central role in preeclampsia and may underlie the haemostatic changes observed in this syndrome [2, 4]. While normal endothelial cells participate in the regulation of haemostasis, perturbed vascular cells may express prothrombotic properties promoting pathologic events [3].

Tissue-type plasminogen activator (t-PA) produced by endothelial cells plays an important role in fibrinolysis by promoting the conversion of plasminogen to plasmin. The protease plasmin cleaves fibrin to produce fibrin degradation products, usually assayed as cross-linked fibrin fragments (D-dimer). The evaluation of D-dimer can be used as a measure of the formation (via thrombin) and lysis (via plasmin) of fibrin. The activity of plasminogen activators is controlled by PAI. The endothelial cell-type PAI (PAI-1) is believed to be the main inhibitor of t-PA, both being produced by the endothelial cell. PAI-2 also plays an important role in pregnancy, being produced by the placenta.

The objective of this study was to examine the relationship between placental expression of plasminogen activator inhibitor-1 and tissue- type plasminogen activators and gestational endotheliopathy in a population of pregnant women.

### Materials and methods

The protocol used for all women during pregnancy was approved by the Committee on Ethics of the Vinnytsya Pirogov Memorial National Medical University and women gave their consent to participate in the study. Clinical data regarding the women were collected at the obstetric service.

Sixty one women who delivered at the obstetric department of the Vinnytsya 1st maternal hospital, from September 2008 to December 2012 were studied: 18 had mild preeclampsia (I group), 11 had severe preeclampsia (II group), 20 had gestational endotheliopathy (III group) and 12 had normal pregnancies.

Normal pregnancy was diagnosed on the basis of clinical and ultrasound findings. Healthy pregnant women had a normal course and outcome of pregnancy and did not receive any medication known to interfere with haemostasis.

Pre-eclampsia was diagnosed by gestational hypertension accompanied by proteinuria. In agreement with the Committee on Terminology of the American College of Obstetricians and Gynaecologists, gestational hypertension was defined as an increase by at least 30 mmHg in systolic or 15 mmHg in diastolic blood pressure, when compared with the values obtained before 20 weeks of gestation; or a sustained blood pressure of at least 140/90 mmHg after 20 weeks of gestation, if prior blood pressure was not known. Proteinuria was defined as the excretion of 300 mg or more of protein in a 24-h urine collection specimen. This usually agrees with 30 mg/dl (1+ on dipstick testing) or higher in a random specimen of urine [1].

We enrolled pregnant women with gestational endotheliopathy (GE), who were diagnosed when microalbuminuria was more than 5,0 mg/mmol (screening test), and endothelium-dependent vasodilation was less than 10% (approving test) [6].

Specific exclusion criteria for all women enrolled included conception by assisted reproduction, gestational diabetes, and diabetes mellitus, a history of smoking and hypertension, proteinuria, renal, cardiovascular and endocrine disease, metabolic disorders, and current infection or history of all types of infection. Moreover, according to our internal protocol, enrolled subjects did not present with thyroid disease, congenital or acquired thrombophilic disorders, or chromosomal or other fetal and uterine anomalies.

*Samples.* After delivery of the placenta samples were immediately collected under aseptic conditions from the center of the maternal side of the placenta, opposite to the site of umbilical cord attachment. The depth of sampling was the outer 1/3 of the placenta thickness. All samples were collected from this area to achieve consistent sampling. The collection procedure did not exclude deciduas; thus, some decidual tissue may have been mixed in the samples. Tissue blocks sized 0,5=0,5=0,5 cm<sup>3</sup> were washed with phosphate buffered saline (PBS) and then placed in liquid nitrogen for protein extraction. Protein quantification was done using a biophotometer spectrophotometer (Eppendorf, Germany). The protein samples were electrophoresed at 100 mg total

protein per lane for each sample, and then transferred onto nitrocellulose membrane. 10% skim milk (diluted by Tris-buffered saline) was used for blocking the membrane. After overnight incubation at 48C with rat anti-human-t-PA antibodies, or rat antihuman-PAI-1 antibody, the membrane was rinsed twice with PBS then incubated with rabbit anti-rat antibody. The relative content of the target protein was the ratio of the intensity of the target protein bands to that of the glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase bands [2].

*Statistical analysis.* Measurements were shown as arithmetic mean "standard deviation" (mean SD) a group t-test was performed. P-0,05 indicated significance. Linear regression was conducted to test the association; P-0,05 indicates significant association.

### Results

Results of this research showed that PAI-1 expression in the placental tissue of preeclamptic pregnancies was significantly higher than those in normal pregnancy. In the present study we found that PAI-1 protein level was higher in placental tissue in mild preeclampsia ( $0,207 \pm 0,02$  ng/ml) and severe preeclampsia ( $0,254 \pm 0,03$  ng/ml) than in physiological pregnancy ( $0,148 \pm 0,02$  ng/ml) without significant difference in gestational endotheliopathy ( $0,187 \pm 0,015$  ng/ml), (Figure 1).

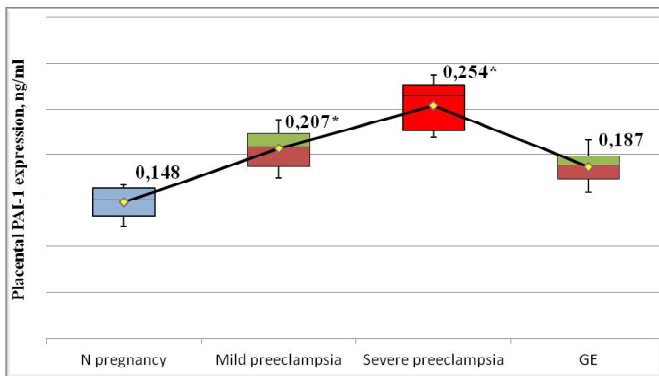
From another side, t-PA protein level in mild preeclampsia ( $0,104 \pm 0,02$  ng/ml) and severe preeclampsia ( $0,077 \pm 0,01$  ng/ml) were significantly lower in placental tissue compared with normal pregnancy ( $0,154 \pm 0,01$  ng/ml), (Figure 2).

The t-PA protein level in non-manifested gestational endotheliopathy was significantly lower in placental tissue also ( $0,121 \pm 0,01$  ng/ml) compared physiological pregnancy.

t-PA and PAI-1 are both produced by endothelial cells and their levels in placental tissue in preeclampsia may suggest the development of endothelial dysfunction.

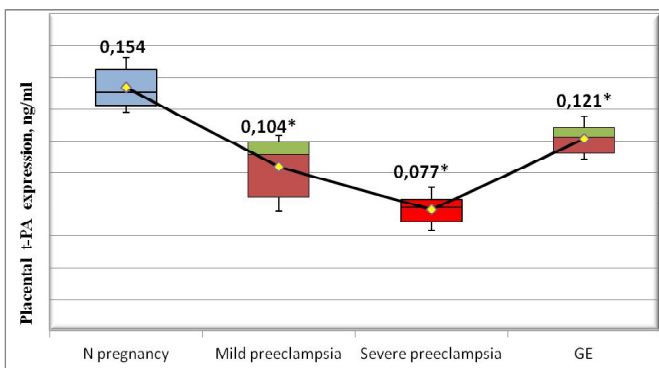
In preeclampsia, t-PA showed an inverse correlation with fibrinogen, suggesting that intravascular coagulation is occurring and that the fibrinolytic system is activated, consuming fibrinogen. It seems there is increased production of t-PA by endothelial cells, the activator of plasminogen to degrade fibrinogen and fibrin. We could hypothesise an overproduction of t-PA in preeclampsia by endothelial cells in order to accomplish some other functions. For instance, it has been reported that t-PA has a mitogenic role in smooth muscle cells, suggesting that its overproduction may contribute to vascular repair, although it may also favour atherogenesis.

The results of this study also showed that patients with preeclampsia had significantly decreased t-PA concentrations as compared with normal pregnancy. The physiological effects of t-PA are to decrease the activity of the fibrinolytic system, thus causing a relative increase of coagulation activity. The data indicate that t-PA protein levels in the placentas of patients with preeclampsia were significantly different from those in normal pregnancy. Another study showed that placental area and total number of trophoblast cells in



**Figure 1.** Placental PAI-1 expression in gestational endotheliopathy and preeclampsia (n=61).

**Note.** Data are presented as mean  $\pm$  SD. \* P < 0,05 vs physiological pregnancy.



**Figure 2.** Placental t-PA expression in gestational endotheliopathy and preeclampsia (n=61).

**Note.** Data are presented as mean  $\pm$  SD. \* P < 0,05 vs physiological pregnancy.

preeclampsia was less than in normal pregnancy [7].

Therefore, it was speculated that the overall t-PA secretion from the placenta in preeclamptic patients must be less than in normal pregnancy, potentially contributing to the lower peripheral t-PA level in preeclamptic patients.

M. Gao et al. [2] found that patients with preeclampsia had increased plasma PAI-1 levels, and there existed an imbalance between the plasminogen activators (t-PA, u-PA) and inhibitor

(PAI-1). They concluded that this imbalance might be one of the reasons for the onset of preeclampsia. Our results support this theory, and also suggest that the imbalance of expression levels of the plasminogen activators and inhibitors in placental tissue may be a contributing factor to their imbalance in patients with preeclampsia.

Studies have demonstrated that t-PA levels vary with gestational age, but the increase of t-PA in late pregnancy is insignificant [5]. It has also been demonstrated that the t-PA production of trophoblast is unaffected by estrogen and progesterones [2]. These observations are consistent with the findings in the present study, which suggest the t-PA expression in placenta is relatively consistent and independent of the other factors studied.

In summary, this study showed that the imbalanced synthesis and secretion of the blood coagulation and fibrinolysis related cytokines, including t-PA, PAI-1 in placenta may promote hypercoagulability in patients with preeclampsia. The significance and importance of their participation are to be further determined.

### Conclusions and prospects for future research

1. Our findings suggest that placental levels of PAI - 1 and t - PA may be a potential biomarker of gestational endotheliopathy.

2. The significant high levels of placental PAI-1 with concurrently significantly lower levels of placental t-PA were associated with the severity of preeclampsia. Additional studies are needed to evaluate the potential role of disordered fibrinolysis in the development of gestational endotheliopathy in genesis of perinatal pathology.

The further research initiatives should be directed in a bid to strengthen the preexisting evidence base for available prevention and to develop novel techniques to aid in the prevention of perinatal pathology due to gestational endotheliopathy. Continued research will further our understanding of the pathophysiology of gestational endotheliopathy and may advance our ability to predict and prevent this potentially serious complication of pregnancy.

### References

- ACOG. Hypertension in Pregnancy: Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' Task Force on Hypertension in Pregnancy // *Obstet. Gynecol.* - 2013. - Vol. 122 (5). - P. 1122-1131.
- Coagulation and fibrinolysis related cytokine imbalance in preeclampsia: the role of placental trophoblasts / Yin-Cheng Teng, Qi-De Lin, Jian-Hua Lin, Chuan-Wei Ding // *J. Perinat. Med.* - 2009. - Vol. 37. - P. 343-348.
- Coagulation in pregnancy / P. Thornton, J. Douglas // *Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology.* - 2010. - Vol. 24. - P. 339-352.
- Elevated tissue plasminogen activator as a potential marker of endothelial dysfunction in preeclampsia: correlation with proteinuria / L. Belo, A. Santos-Silva, A. Rumley [et al.] // *BIOG.* - 2002. - Vol. 109. - P. 1250-1255.
- Haemostatic mechanisms in human placenta / N. Lanir, A. Aharon, B. Brenner [et al.] // *Best Pract. Res. Cl. Ha.* - 2003. - Vol. 16. - P. 183-195.
- Konkov D. G. The features of conversion of spiral arteries in pregnant women with the gestational endotheliopathy / D.G. Konkov // *Вісник Вінницького національного медичного університету.* - 2016. - Т. 20, №1, Ч. 1 - С. 65-68.
- The imbalance of plasminogen activators and inhibitor in preeclampsia / M. Gao, M. Nakabayashi, M. Sakura, Y. Takeda // *J. Obstet. Gynaecol. Res.* - 1996. - Vol. 22. - P. 9-16.

**Коньков Д.Г.**

### ОСОБЛИВОСТІ КОНВЕРСІЇ СПІРАЛЬНИХ АРТЕРІЙ У ВАГІТНИХ ЖІНОК ПРИ ГЕСТАЦІЙНІЙ ЕНДОТЕЛІОПАТІЇ

**Резюме.** Фібринолітичний дисбаланс може відігравати вирішальну роль в гіперкоагуляції при гестаційній ендотеліопатії. Нашою метою було дослідити нові фібринолітичні маркери факторів згортання крові в плацентарній тканині при пreeкламписі та фізіологічній вагітності. 61 зразки плаценти були отримані після пологів при фізіологічній вагітності, гестаційній ендотелі-

опатії та преекламсії. Була досліджена плацентарна експресія інгібітора-1 активатора плазміногену (PAI-1) та тканинного активатора плазміногену (t-PA). Було встановлено, що преекламсія супроводжувалася значним зниженням експресії t-PA та достовірним зростанням PAI-1 у плацентарній тканині.

**Ключові слова:** гестаційна ендотеліопатія, преекламсія, плацента, PAI-1, t-PA.

**Коньков Д.**

### ОСОБЕННОСТИ КОНВЕРСИИ СПИРАЛЬНЫХ АРТЕРИЙ У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН ПРИ ГЕСТАЦИОННОЙ ЭНДОТЕЛИОПАТИИ

**Резюме.** Фибринолитический дисбаланс может играть решающую роль в гиперкоагуляции при гестационной эндотелиопатии. Нашей целью было исследовать новые фибринолитические маркеры факторов свертывания крови в плацентарной ткани при преэклампсии и физиологической беременности. 61 образец плаценты был получен после родов при физиологической беременности, гестационной эндотелиопатии и преэклампсии. Была исследована плацентарная экспрессия ингибитора-1 активатора плазминогена (PAI-1) и тканевого активатора плазминогена (t-PA). Было установлено, что преэклампсия сопровождалась значительным снижением экспрессии t-PA и достоверным ростом PAI-1 в плацентарной ткани.

**Ключевые слова:** гестационная эндотелиопатия, преэклампсия, плацента, PAI-1, t-PA.

*Reviewer - prof., MD Bulavenko O.V.*

*Received 30.11.2016*

*Коньков Дмитрий Геннадійович - д.мед.н., доц. кафедри акушерства та гінекології №1 Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова; +38(0432)570360; dkonkov69@mail.ru*

---

© Бондарчук В.І., Мисула І.Р.

УДК: 616.318.-091.8-02:616.33/.342-002]-092.9

**Бондарчук В.І., Мисула І.Р.**

Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України (майдан Волі, 1, м. Тернопіль, Україна, 46001)

## МОРФОМЕТРИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ТКАНИН ЩІЧНОЇ ДІЛЯНКИ ПОРОЖНИНИ РОТА ПРИ ВПЛИВІ РІЗНИХ ТИПІВ ЗАПАЛЬНОЇ РЕАКЦІЇ ЗА УМОВИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГАСТРОДУОДЕНІТУ

---

**Резюме.** У статті наведено дані морфометричних змін структур слизової оболонки щоки при впливі різних типів запальної реакції за умови експериментального гастродуоденіту. Виявлено, що найбільш значні зміни у тканинах ротової порожнини за морфометричними показниками щічної ділянки, виявлено у тварин з гіперергічним типом запальної реакції. У щурів з гіпоергічним типом запальної реакції поширеність морфометричних змін була найменш вираженою. У досліджуваних групах щурів з плином часу морфометричні зміни були найбільш значними на 10 добу експерименту не залежно від типу запальної реакції.

**Ключові слова:** шока, порожнина рота, гіпоергічний тип запальної реакції, нормоергічний тип запальної реакції, гіперергічний тип запальної реакції, гастродуоденіт, морфометрія.

---

### Вступ

Слизова оболонка порожнини рота є чутливим індикатором оцінки патологічних процесів шлунково-кишкового тракту [10, 12, 14], що зумовлено відмінністю її від інших слизових оболонок за морфологічними ознаками [10, 12, 13]. Для її епітелію характерною є провідна роль в реалізації захисних механізмів, до яких відносять високу ферментативну активність, високу інтенсивність обмінних процесів, наявність у незроговілому епітелії великої кількості глікогену і його здатність до швидких перебудов [3, 4, 13]. При захворюванні органів травлення, залежно від глибини ураження того чи іншого органа, розвиваються морфологічні зміни слизової оболонки всіх відділів порожнини рота [4, 10, 11, 14]. При механічній жовтяниці у слизовій оболонці порожнини рота з'являються дистрофічні та деструктивні зміни, які призводять до атрофії слизової оболонки. При цьому товщина епітеліального шару в ділянці губ зменшується на 38,21 %, щоки - на 43,25 %, ясен - на 45,51 %, відмічається

зростання питомої ваги пошкоджених епітеліоцитів остеоподібного шару та зменшення у власній пластинці і підслизовій основі відносного об'єму капілярів [11]. Частота дегенеративних уражень слизової порожнини рота останнім часом, за даними літературних джерел України та зарубіжних авторів, невпинно зростає, що зумовлено дією як екзогенних так і ендогенних факторів [4, 11, 13, 14]. Однак, на даний час залишаються суперечливими наукові дані про характер і ступінь проявів морфометричних змін тканин порожнини рота різної локалізації, зокрема щічної ділянки при впливі різних типів запальної реакції за умови експериментального гастродуоденіту. Тому вказана проблематика є важливою, актуальною, і вимагає свого вирішення.

Мета роботи - вивчити та оцінити зміни морфометричних параметрів слизової оболонки порожнини рота щічної ділянки при впливі різних типів запальної реакції за умови експериментального гастродуоденіту.