

ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ ФАКТОРОВ АПОПТОЗА В ТРОФОБЛАСТЕ ВОРСИН ХОРИОНА И ДЕЦИДУАЛЬНОЙ ТКАНИ В ПЛАЦЕНТАХ С АНОМАЛИЯМИ ОТДЕЛЕНИЯ

Гиниятова Айгуль Адиповна

м.н.с., Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества Минздрава России», г. Екатеринбург

Чистякова Гузель Нуховна,

проф., д.м.н.

Ремизова Ирина Ивановна,

к.б.н.

Гришкина Анастасия Александровна,

м.н.с.

Аннотация

С целью оценки соотношения апоптотических и проапоптотических факторов проведено исследование 23 плацент, имевших аномальное прикрепление к стенке матки. В результате проведенного исследования выявлено усиление апоптотических процессов в трофобласте ворсин, проявляющееся повышенной экспрессией белка p53, и снижение антиапоптотической активности (неравномерная умеренная положительная реакция bcl-2) в децидуальной ткани последов с патологией прикрепления.

Abstract

There was conducted research of 23 placentas which had an abnormal adherence to the uterine wall with the aim to evaluate the ratio of apoptotic and proapoptotic factors. The study found increasing of apoptotic processes in the villi's trophoblast manifested by increased expression of p53 protein, and a decreasing anti-apoptotic activity (uneven moderate positive bcl-2 reaction) in the decidual tissue of placentas with pathology of adherence.

Ключевые слова: апоптоз, плацента, placenta accreta, placenta increta, placenta percreta.

Keywords: apoptosis, placenta, placenta accreta, placenta increta, placenta percreta.

Одной из актуальных проблем оперированной матки является формирование при последующих беременностях аномалий прикрепления плаценты (Placenta accreta, increta, percreta), которые сопровождаются формированием таких осложнений, как угроза прерывания беременности, развитие плацентарной недостаточности, кровотечения в III триместре, в родах и в послеродовом периоде, непосредственно угрожающие жизни женщин, а также риском массивной кровопотери в родах, начиная с попытки отделения последа, и материнской смертностью [4, с. 76].

Считается, что основную роль в патогенезе данного состояния играют изменения в эндометрии после предыдущих внутриматочных манипуляций, а также нарушение процессов децидуализации.

Перспективным является направление прогнозирования данной патологии путем детекции лабораторных маркеров: ряда белков, фетальной ДНК, мРНК, тем самым дополняя методы инструментальной визуализации [1, с.6].

В литературе имеются сведения, что на всех этапах развития плаценты, начиная с имплантации и заканчивая ее отторжением, принимает непосредственное или опосредованное участие феномен естественной программируемой клеточной гибели – апоптоз [7, p.1464].

Определение активности апоптоза в последе играет немаловажную роль в характеристике процессов ее формирования и функционирования. Усиление программированной клеточной гибели является одним из основных проявлений возрастной инволюции различных органов и тканей.

Присутствие клеток в состоянии апоптоза может быть связано со стадией развития плаценты, включая прикрепление и инвазию трофобласта, трансформацию спиральных артерий, а также механизмом, ограничивающим и локализуящим этот процесс, дифференцировку трофобласта, при родах [2, с.75; 3, с.46; 5, с.73], что и определило цель настоящего исследования.

Цель исследования: оценить соотношения апоптотических и проапоптотических факторов в последах, имевших аномальное прикрепление к стенке матки.

Материалы и методы: исследованы 23 плаценты от женщин, родоразрешенных в ФГБУ «НИИ ОММ» Минздрава России в 2017 году. Первую группу составили 11 случаев с гистологически подтвержденным нарушением прикрепления последа. Вторая группа - 12 случаев с нормально отделенной плацентой.

Критерии включения: placenta (pl.) adhaerens, pl. increta, pl. accrete.

Фрагменты плацент родильниц после фиксации в 10% забуференном формалине запускались в гистологическую проводку, затем заливались в парафин. Исследование плацент проводилось на микроскопе Primo Star (производитель Zeiss, Германия) с использованием обзорной окраски микропрепаратов гематоксилином-эозином. В качестве маркеров были использованы антитела к белкам p53 (DO-7, Leica, Германия), bcl-2 (100/D5, Leica, Германия), NOXA (GeneTex, США). Связавшиеся первичные антитела визуализировали с помощью набора Bond Polymer Refine Detection (производитель Leica, Гер-

мания). В качестве оценки экспрессии использовалась полуколичественная система регистрации реакции по интенсивности окрашивания от одного креста (слабое окрашивание) до трех (самое интенсивное окрашивание). Подсчет клеток с экспрессией белка p53 проводился в четырех полях зрения с вычислением среднего количества на гистологический препарат.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ «Statistica for Windows 7.0». Для показателей характеризующих качественные признаки, указывали абсолютное значение и относительную величину в процентах, для проверки статистических гипотез о совпадении наблюдаемых и ожидаемых частот использовали точный метод Фишера. Данные представляли в виде медианы (Me), нижнего и верхнего квартилей (25-го и 75-го перцентилей, LQ и UQ).

Проверку статистических гипотез об отсутствии межгрупповых различий осуществляли с помощью критериев Стьюдента, Манна-Уитни. Уровень статистической значимости различий (p) с учетом поправки Бофферони принимали равным 0,05.

Результаты исследования.

Регуляция процесса апоптоза происходит при участии проапоптотических и антиапоптотических факторов. Ключевую роль в гибели клетки играет опухолевый супрессор p53, его регуляция осуществляется, в том числе при участии семейства таких белков как bcl-2, Noxa.

В ходе проведенного иммуногистохимического исследования выявлено статистически значимое повышение количества клеток трофобласта, имеющих умеренную положительную ядерную экспрессию антигена p53 (7 (6-13,5) в первой группе против 4 (3-4,75) во второй группе, $p < 0,05$). В децидуальной ткани экспрессия антигена p53 в обеих группах была сопоставима (6 (1-7,5) в первой группе, 6 (1-10) во второй).

В цитоплазме трофобласта ворсин в обеих группах в 100% случаях наблюдалась интенсивная экспрессия антигена bcl-2, отвечающего за блокировку программируемой гибели клеток [6, p.396]. В децидуальной ткани во второй группе с нормально отделенной плацентой в большинстве случаев отмечалась слабая экспрессия данного антигена (58,3% против 9,1% в первой группе, $p = 0,03$). Умеренная положительная реакция регистрировалась в 18,2% случаев в первой группе, в 41,7% во второй группе ($p > 0,05$). Интенсивная экспрессия антигена bcl-2 наблюдалась в 9,1% фрагментов плацент первой группы.

Умеренная и интенсивная экспрессия антигена Noxa, который в свою очередь, связываясь с белками группы bcl-2 активирует естественную гибель клеток [8, p.5812], в цитоплазме трофобласта ворсин регистрировалась в первой группе в 36,4% и в 63,6% случаев соответственно, во второй группе в 50% и 66,7% наблюдений ($p > 0,05$ во всех случаях).

Слабая экспрессия антигена Noxa в цитоплазме стромы выявлена в 9,1% случаев в плацентах с патологией прикрепления, в 33,3% с «нормальным» прикреплением. Интенсивное окрашивание цитоплазмы клеток децидуальной ткани наблюдалось в 72,7% наблюдений в первой группе и в 100% второй группы. В первой группе в 27,3% случаев отмечалась умеренная положительная реакция антигена Noxa.

Таким образом, у женщин с нарушением прикрепления последа регистрировалось статистически значимое усиление апоптотических процессов в трофобласте ворсин, выраженное повышенной экспрессией белка p53, и снижение антиапоптотической активности в децидуальной ткани, что ассоциируется с неравномерной умеренной положительной реакцией bcl-2 и Noxa. Полученные результаты диктуют необходимость проведения дальнейших исследований.

Список литературы:

1. Виноцкий А.А., Шмаков Р.Г. Современные представления об этиопатогенезе вращающегося плаценты и перспективы его прогнозирования молекулярными методами диагностики. Акушерство и гинекология. №2. 2017. – С.5-10.
2. Коржевский Д.Э., Отеллин В.А., Старорусская А.Н., Павлова Н.Г. Локализация антиапоптотического белка bcl-2 в плаценте человека. Морфология. 2007. – С 75-76.
3. Лапина Е.А., Линькова Н.С., Дурнова А.О., Полякова В.О., Пальченко Н.А., Костылев А.В., Коналов С.С., Кветной И.М. Экспрессия сигнальных молекул – регуляторов апоптоза в плаценте у женщин разного возраста. Научные ведомости. Серия Медицина. Фармация. № 22 (93). Выпуск 12/1. 2010. – С 45-48.
4. Рымашевский А.Н., Волков А.Е., Никитина Е.С., Волошин В.В., Волошина А.В., Смирнова И.В. Опыт ведения родов, осложненных placenta accreta. Вестник национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. Том 11. Номер 3. 2016. – С.76-80
5. Шестопалов А.В., Микашинович З.И., Буштырева И.О., Ставский И.М., Артунян А.В. Роль апоптоза в развитии плаценты. Журнал акушерства и женских болезней. Том LVIII. Выпуск 2. 2009. – С.72-80.
6. D.T. Chao. BCL-2 family: regulators of cell death / D.T. Chao, S.J. Korsmeyer // Annual review of immunology. - 1998. - Vol. 16. - P. 395-419.
7. G. Kromer. Classification of cell death: recommendations of Nomenclature Committee on Cell Death / G.Kromer, W.S. El-Deiry, P.Golsten // Cell Death and Differentiation – 2005. – Vol. 12. – P.1463-1467.
8. F.A. Sinicrope. Prognostic Impact of Bim, Puma, and Noxa Expression in Human Colon Carcinomas / F.A. Sinicrope, R.L. Rego, K. Okumura, N.R. Foster, M.J. O'Connell et al. // Clin Cancer Res. – 2008. – Vol. 14(18). P.5810-5818.