

Д.Э. Коржевский¹, В.А. Отеллин^{1,2}, А.Н. Старорусская³ и Н.Г. Павлова³

ЛОКАЛИЗАЦИЯ АНТИАПОПТОЗНОГО БЕЛКА BCL-2 В ПЛАЦЕНТЕ ЧЕЛОВЕКА

¹ Отдел морфологии (зав. — чл.-кор. РАМН проф. В.А. Отеллин) Института экспериментальной медицины РАМН;

² лаборатория онтогенеза нервной системы (руков. — чл.-кор. РАМН В.А. Отеллин) Института физиологии им. И.П. Павлова РАН; ³ лаборатория физиологии и патофизиологии плода (зав. — д-р. мед. наук Н.Г. Павлова) Научно-исследовательского института акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта РАМН, Санкт-Петербург

Цель настоящего исследования состояла в иммуноцитохимическом изучении распределения антиапоптозного белка bcl-2 в различных структурах плаценты человека. Установлено, что синцитиотрофобласт дает наиболее интенсивную реакцию на bcl-2, тогда как элементы цитотрофобласта, клетки соединительной ткани ворсин и стенки кровеносных сосудов bcl-2-негативны. Предполагается, что накопление bcl-2 в синцитиотрофобласте отражает его высокую устойчивость к повреждающим факторам.

Ключевые слова: плацента, апоптоз, bcl-2, человек.

В последнее время важная роль в процессе формирования и функционирования плаценты отводится апоптозу [5]. Установлено, что в клетках цитотрофобласта апоптотическая гибель индуцируется гипоксией [2], а в синцитиотрофобласте усиление апоптоза отмечено в случаях преэклампсии и задержки внутриутробного развития плода [3]. Одним из главных внутриклеточных факторов, препятствующих апоптозу, является белок bcl-2, который обеспечивает выживание клеток при действии различных апоптогенных стимулов [6]. В связи с этим изучение экспрессии этого антиапоптозного фактора в плаценте человека не только представляет интерес для фундаментальной науки, но имеет и большое практическое значение, так как способствует пониманию патогенеза различных заболеваний, ключевым звеном которых является недостаточность функции плаценты.

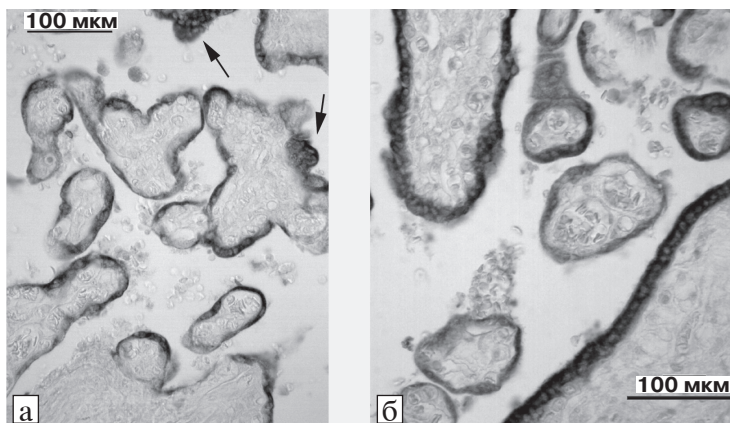
Цель настоящего исследования — изучение распределения белка bcl-2 в различных структурах плаценты человека.

Материал и методы. В исследовании использованы фрагменты 20 плацент человека, полученных после родов в Научно-исследовательском институте акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта РАМН, при отсутствии тяжелых экстрагенитальных заболеваний у матери. В 12 случаях по результатам доплерометрического исследования, выполненного на приборе Voluson 730 Expert (General Electric, США) были выявлены нарушения маточно-плацентарного или (и) плодово-плацентарного кровообращения различной степени выраженности в последнем триместре беременности. В остальных случаях нарушений плацентарного кровообращения не было выявлено. Для световой микроскопии материал фиксировали в 0,5% растворе параформальдегида на 80⁰ этаноле или в цинк-этанол-формальдегиде и заливали в парафин

по общепринятой методике. Препараты окрашивали гематоксилином — эозином. На срезах иммуноцитохимически выявляли белок bcl-2 при помощи моноклональных антител (клон 124, DakoCytomation, Дания). Связавшиеся первичные антитела визуализировали с помощью набора EnVision+ (DakoCytomation, Дания), часть срезов докрашивали квасцовым гематоксилином.

Результаты исследования. Во всех исследованных препаратах наблюдали структуры, дающие положительную реакцию на белок bcl-2. Наиболее интенсивная реакция отмечалась в синцитиотрофобласте (рисунок). Элементы цитотрофобласта (как в ворсинах, так и вне их) оставались bcl-2-негативными. В отдельных случаях наиболее интенсивная реакция на bcl-2 в пределах одной ворсины наблюдалась в области так называемых «трофобластических почек» (см. рисунок, а), которые представляют собой утолщения синцития со сгруппированными в этой зоне ядрами, часть из которых имеют структурные признаки, характерные для апоптотически погибающих клеток. Синцитиотрофобласт более крупных (промежуточных и стволовых) ворсин обычно давал более интенсивную реакцию на bcl-2, чем трофобласт терминальных ворсин (см. рисунок, б). В терминальных ворсинах плаценты реакция на bcl-2 часто была неравномерной по интенсивности. В случаях тромбоза межворсинчатого пространства в большинстве ворсин наблюдалась дегенерация синцитиотрофобласта с исчезновением положительной реакции на bcl-2, но в единичных ворсинах часть иммунопозитивного симпласта сохранялась.

Помимо трофобласта, положительная реакция на bcl-2 отмечена в цитоплазме единичных лейко-



Белок bcl-2 в синцитиотрофобласте плаценты человека

а — 39 нед развития; б — 33 нед развития. Стрелки — «трофобластические почки». Иммуноцитохимическая реакция на белок bcl-2 без докраски.

цитов материнской крови (в лакунах) и отдельных округлых клеток хориальной пластинки.

В случаях клинически установленного нарушения плацентарного кровообращения (плацентарной недостаточности) характер распределения белка bcl-2 в элементах трофобласта не менялся. Однако сравнение интенсивности реакции на белок bcl-2 показало, что в отличие от умеренно интенсивной реакции, характерной для контроля, при нарушениях плацентарного кровообращения встречаются случаи как с высокоинтенсивной реакцией на bcl-2, так и со слабой реакцией. При этом реакция слабой интенсивности была характерна преимущественно для тяжелых случаев течения плацентарной недостаточности.

Обсуждение полученных данных. Проведенное исследование показало, что синцитиотрофобласт плаценты человека является особой структурой, для которой характерна высокая концентрация одного из наиболее эффективных эндогенных антиапоптозных факторов, белка bcl-2. Сравнение результатов исследования с данными об экспрессии белка bcl-2 в эмбриональных тканях, полученными с применением аналогичных подходов [1], показало, что интенсивность реакции на bcl-2 в трофобласте выше, чем, например, в эмбриональной нервной ткани, что, вероятно, указывает на необходимость противодействия более сильным апоптогенным стимулам. Можно предположить, что в синцитиотрофобласте главным фактором, способствующим индукции апоптоза, которому препятствует защита, опосредованная bcl-2, служит локально продуцируемая эндогенная окись азота [4]. Понижение и повышение концентрации bcl-2 в плаценте, таким образом, отражает уровень устойчивости трофобласта к апоптозу и может указывать на компенсаторно-приспособи-

тельную либо дизадаптивную направленность его функциональных перестроек. Изучение этого показателя и установление связи его уровня с клиническим течением беременности и состоянием маточно-плацентарной системы кровообращения может послужить созданию новых методов определения функционального состояния плаценты и ее чувствительности к эндо- и экзогенным повреждающим факторам.

Работа выполнена при поддержке программы президиума Российской академии наук «Фундаментальные науки — медицине».

ЛИТЕРАТУРА

1. Коржевский Д.Э., Талантова О.Е. и Павлова Н.Г. Экспрессия белка bcl-2 в развивающемся головном мозге человека. *Морфология*, 2002, т. 122, вып. 5, с. 31–34.
2. Hu R, Zhou S. and Li X. Altered Bcl-2 and Bax expression is associated with cultured first trimester human cytotrophoblasts apoptosis induced by hypoxia. *Life Sci.*, 2006, v. 79, № 4, p. 351–355.
3. Ishihara N., Matsuo H., Murakoshi H. et al. Increased apoptosis in the syncytiotrophoblast in human term placentas complicated by either preeclampsia or intrauterine growth retardation. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2002, v. 186, № 1, p. 158–166.
4. Schiessl B., Mylonas I., Hantschmann P. Expression of endothelial NO synthase, inducible NO synthase, and estrogen receptors alpha and beta in placental tissue of normal, preeclamptic, and intrauterine growth-restricted pregnancies. *J. Histochem. Cytochem.*, 2005, v. 53, № 12, p. 1441–1449.
5. Straszewski-Chavez S.L., Abrahams V.M. and Mor G. The role of apoptosis in the regulation of trophoblast survival and differentiation during pregnancy. *Endocr Rev.*, 2005, v. 26, № 7, p. 877–897.
6. Walensky L.D. Bcl-2 in the crosshairs: tipping the balance of life and death. *Cell Death. Differ.*, 2006, v. 13, № 8, p. 1339–1350.

Поступила в редакцию 20.12.06

LOCALIZATION OF BCL-2 ANTIAPOPTOTIC PROTEIN IN HUMAN PLACENTA

D.E. Korzhevskiy, V.A. Otellin, A.N. Starorusskaya and N.G. Pavlova

The aim of this investigation was to study the distribution of bcl-2 antiapoptotic protein in various structures of human placenta using immunocytochemical methods. Syncytiotrophoblast was found to have the greatest bcl-2 immunoreactivity, while cytotrophoblastic elements, connective tissue cells of the villi and the blood vessel walls were bcl-2-negative. It is suggested that accumulation of bcl-2 in the syncytiotrophoblast may reflect its high resistance to detrimental factors.

Key words: *placenta, apoptosis, bcl-2, man.*

Department of Morphology, RAMS Scientific Research Institute of Experimental Medicine; Laboratory of Nervous System Ontogenesis, RAS I.P. Pavlov Institute of Physiology; Laboratory of Normal and Pathological Physiology of the Fetus, D.O. Ott RAMS Scientific Research Institute of Obstetrics and Gynecology, St. Petersburg.