

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ КЛІНІЧНОЇ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ МЕДИЦИНИ

Матеріали 86-ї підсумкової конференції науковців
Буковинського державного медичного університету

Чернівці, БДМУ
2005

| | |
|--|-----|
| І.С. Давиденко, В.П. Пішак, М.Ю. Коломоєць, І.Й. Сидорчук ЕКСПРЕСІЯ ПРОЛІФЕРАТИВНОГО КЛІТИННОГО НУКЛЕАРНОГО АНТИГЕНУ В ЯДРАХ ЕПІТЕЛІЇ ХОРІАЛЬНИХ ВОРСИН ПЛАЦЕНТИ ПРИ ПЕРЕДЧАСНИХ ПОЛОГАХ НА ФОНІ ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНОЇ АНЕМІЇ ВАГІТНИХ | 104 |
| М.С. Крилюк, І.С. Давиденко ЕКСПРЕСІЯ ПРОЛІФЕРАТИВНОГО КЛІТИННОГО НУКЛЕАРНОГО АНТИГЕНУ В ЯДРАХ ЦИТОТРОФОБЛАСТА ХОРИАЛЬНИХ ВОРСИН ПРИ КАЛЬЦИНОЗІ ПЛАЦЕНТИ | 111 |
| Б.Г. Макар, О.Ф. Марчук ТОПОГРАФО-АНАТОМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ СТРАВОХОДУ У ПЕРЕДПЛОДІВ ЛЮДИНИ | 116 |
| І.Ю.Олійник НОВИЙ ПОГЛЯД НА ФОРМОУТВОРЕННЯ ЗАГРУДНИННОЇ ЗАЛОЗИ В ПРЕНАТАЛЬНОМУ ОНТОГЕНЕЗІ ЛЮДИНИ..... | 120 |
| В.П.Пішак, В.Г.Висоцька, Р.Є.Булик, В.М.Магалаєс, К.Г.Ташук, М.М.Радько РОЛЬ ПОРУШЕННЯ МІКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО КРОВООБІГУ В РОЗВИТКУ ПАТОЛОГІЇ НИРОК ЗА УМОВ СУЛЕМОВОЇ НЕФРОПАТІЇ | 125 |
| В.П. Пішак, О. І. Сметанюк ФЛОРА ЛІКАРСЬКИХ РОСЛИН БУКОВИНИ | 128 |
| В.П. Пішак, Т.В. Хмара КОРЕЛЯТИВНІ ВЗАЄМОВІДНОШЕННЯ ЧОЛОВІЧИХ СТАТЕВИХ ОРГАНІВ У 5-МІСЯЧНОГО ПЛОДА ЛЮДИНИ | 135 |
| В.В.Степанчук СТРУКТУРА ХРОНОРИТМІВ ТКАНИННОГО ФІБРИНОЛІЗУ І НЕОБМЕЖЕНОГО ПРОТЕОЛІЗУ В КІРКОВОМУ ШАРІ НИРОК БІЛИХ ЩУРІВ НА ТЛІ ЗМІН ФАЗ ЦИКЛУ МІСЯЦЯ | 139 |
| О.А. Тюленєва, І.С. Давиденко МОРФОМЕТРИЧНІ ПАРАМЕТРИ МІКРОЦИРКУЛЯЦІЇ В ТЕРМІНАЛЬНИХ ВОРСИНАХ ПРИ ЕКСТРАХОРИАЛЬНИХ ПЛАЦЕНТАХ..... | 143 |
| Н.М. Шумко ОРГАНІЗАЦІЯ ХРОНОРИТМІВ ЕКСКРЕТОРНОЇ ФУНКЦІЇ НИРОК В ІНТАКТНИХ ТВАРИН | 147 |

ЕКСПРЕСІЯ ПРОЛІФЕРАТИВНОГО КЛІТИННОГО НУКЛЕАРНОГО АНТИГЕНУ В ЯДРАХ ЦИТОТРОФОБЛАСТА ХОРІАЛЬНИХ ВОРСИН ПРИ КАЛЬЦИНОЗІ ПЛАЦЕНТИ

М.С. Крилюк, І.С. Давиденко

Кафедра патологічної анатомії та судової медицини
(зав.- доц. І.С. Давиденко)
Буковинського державного медичного університету

Вступ. Незважаючи на багаторічні дослідження кальцинозу плаценти, доводиться констатувати, що залишаються ще не вивченими як самі механізми кальцифікації цього органа, так і взаємовідношення вапнування структур з іншими фізіологічними та патологічними процесами у плаценті [1, 4]. Однією із недостатньо вивчених проблем є особливості проліферації цитотрофобласта за умов кальцинозу плаценти. Високодостовірним способом вивчення проліферації цитотрофобласта вважається імуногістохімічне дослідження експресії проліферативного клітинного нуклеарного антигену в цих клітинах плаценти [5]. Проліферативний клітинний нуклеарний антиген (PCNA – від англ. “Proliferating Cell Nuclear Antigen”) – є протеїном, який визначається виключно в клітинних ядрах. Він є кофактором для ДНК-полімерази-дельта в S-фазу та під час синтезу ДНК при її репарації у разі пошкодження. В плаценті експресія PCNA найбільш виражена у цитотрофобласті (ЦТБ), який, як відомо, характеризується високою мітотичною активністю і слугує джерелом регенерації синцитіотрофобласта [3, 5, 6].

Мета дослідження. Вивчити імуногістохімічним методом кількісні параметри експресії проліферативного клітинного нуклеарного антигену в цитотрофобласті хоріальних ворсин різних типів при кальцинозі плаценти.

Матеріал і методи. Дослідженню підлягали 45 плацент, отриманих від жінок при пологах у 37-40 тижнів гестації. Всі випадки

залежно від результатів діагностики кальцинозу були розподілені в наступні дві групи дослідження: 1) плаценти без кальцинозу (24); 2) кальциноз плаценти (21).

Свіжий матеріал фіксували впродовж 22 годин у нейтральному забуференому 10% водному розчині формаліна, після чого здійснювали зневоднювання у висхідній батареї етанолу і заливку в парафін. Парафінові зрізи 5 мкм завтовшки монтували на спеціальні неімуногенні предметні скельця SuperFrost®Plus (Німеччина). Після депарафінізації зрізів здійснювали імуногістохімічне визначення PCNA за допомогою первинних антитіл до PCNA та стрептавідин-біотинової системи візуалізації LSAB2 (пероксидазна мітка + діамінобензидин) виробника DakoCytomation (Данія). Дофарбування ядер виконували гематоксиліном Майєра. Вивчалися тільки три типи хоріальних ворсин – проміжні зрілі, термінальні та стовбурові.

Підраховували кількість PCNA-позитивних ядер, ідентифікованих як ЦТБ, у ворсинах різних типів. На підставі таких підрахунків обраховували кількість PCNA-позитивних ядер на 100 ворсин певного типу.

Кількісні дослідження інтенсивності зафарбовування ядер проводили наступним чином. Спочатку отримували цифрові копії [2] оптичного зображення хоріальних ворсин при використанні об'єктиву мікроскопа x40. Потім цифрові копії зображення аналізували за допомогою ліцензійної копії комп'ютерної програми "ВидеоТест – Размер 5.0" (ООО Видеотест, Санкт-Петербург, Россия). Аналіз здійснювався на підставі замірів інтенсивності забарвлення по всій площі зріза ядра за показником "середня оптична щільність" (у відн. од.).

При статистичній обробці даних після процедури прийняття гіпотези про нормальність всіх вибірок за допомогою критерію Шапіро-Уїлкі обраховували середню арифметичну та її похибку, а потім вірогідність різниці між групами дослідження визначали за допомогою двостороннього непарного критерію Ст'юдента. Різницю вважали вірогідною при рівні значущості $p \leq 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення. В імуногістохімічних препаратах плацент без кальцинозу PCNA-позитивні ядра серед трьох вивчених типів ворсин частіше зустрічалися у проміжних зрілих ворсинах (рис.1). Найбільш інтенсивне забарвлення відмічалось у ядрах ЦТБ, при цьому середня оптична щільність складала $0,59 \pm 0,008$ відн.од. для проміжних зрілих ворсин, $0,58 \pm 0,009$ для

термінальних ворсин, $0,58 \pm 0,012$ для стовбурових ворсин. З наведених даних видно, що інтенсивність забарвлення ядер ЦТБ при імуногістохімічній реакції на протеїн PCNA не залежить від типу ворсин. Слід зазначити, що PCNA-негативні ядра ЦТБ зустрічалися тільки в деяких плацентах, причому навіть у них такі клітини знаходили як поодинокі. Кількість PCNA-позитивних ядер ЦТБ на 100 ворсин залежно від типу ворсин показана в таблиці. Подані цифри не суперечать існуючому сучасному погляду на те, що проміжні ворсини є попередниками термінальних ворсин [3].

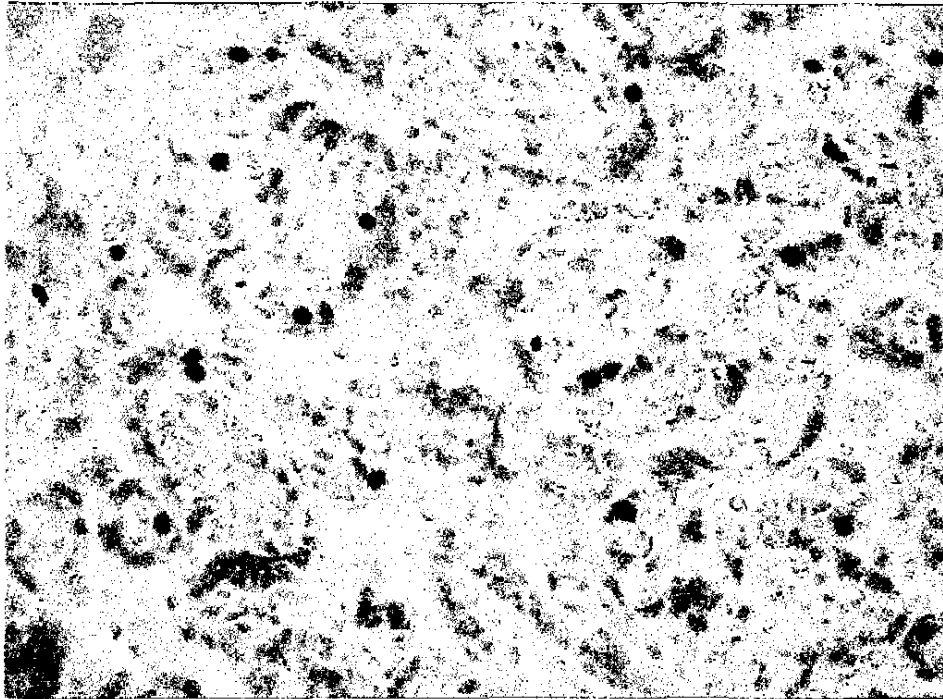


Рис. 1. Плацента без кальцинозу. Термін гестації 38 тижнів. PCNA-позитивні ядра цитотрофобласта (найбільш темні ядра на фото) знаходяться переважно у проміжних зрілих ворсинах та іноді у термінальних ворсинах. Імуногістохімічне визначення протеїну PCNA, дофарбування клітинних ядер гематоксиліном Майєра. $\times 200$.

Таблиця

Середня кількість PCNA-позитивних ядер цитотрофобласта в розрахунку на 100 ворсин певного типу при кальцинозі плаценти $M \pm m$

| Плаценти без кальцинозу | Кальциноз плаценти |
|-------------------------------|----------------------------|
| ПРОМІЖНІ ЗРІЛІ ВОРСИНИ | |
| $164 \pm 5,8$ | $8 \pm 0,7$ $P < 0,001$ |

| ТЕРМІНАЛЬНІ ВОРСИНИ | |
|---------------------|------------------|
| 40±1,3 | 1±0,1 P<0,001 |
| СТОВБУРОВІ ВОРСИНИ | |
| 98±6,8 | 4±0,3 P<0,001 |
| n=24 | n=21 |

В імуногістохімічних препаратах плацент з кальцинозом як і в плацентах без кальцинозу PCNA-позитивні ядра серед трьох вивчених типів ворсин частіше зустрічалися у проміжних зрілих ворсинах, хоч кількість таких ядер була значно нижчою при кальцинозі плаценти (рис.2, табл.). Середня оптична щільність PCNA-позитивних ядер ЦТБ складала $0,58 \pm 0,009$ відн.од. для проміжних зрілих ворсин, $0,59 \pm 0,011$ для термінальних ворсин, $0,59 \pm 0,010$ для стовбурових ворсин. Вірогідних відмінностей по цьому показнику від плацент без кальцинозу знайдено не було ($p > 0,05$).

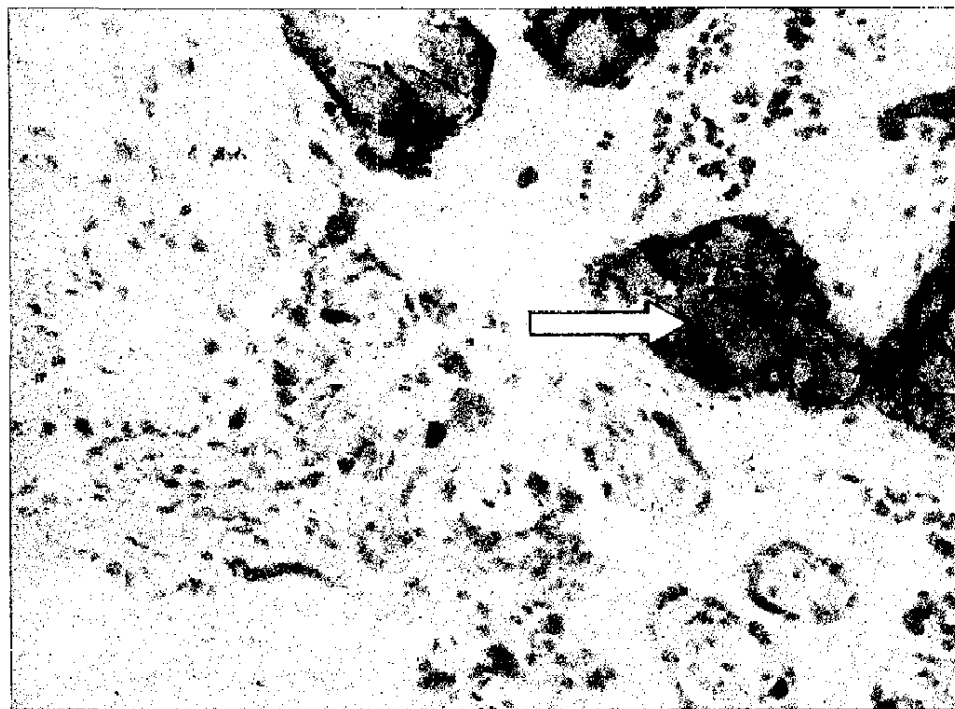


Рис. 2. Кальциноз плаценти. Термін гестації 38 тижнів. В полі зору лише три PCNA-позитивних ядра цитотрофобласта. Відкладання солей кальцію позначені стрілками. Імуногістохімічне визначення протеїну PCNA, дофарбування клітинних ядер гематоксиліном Майєра, x200.

Висновок. При кальцинозі плаценти у проміжних зрілих, термінальних та стовбурових ворсинах порівняно з плацентами без кальцинозу має місце різко знижена кількість клітин, ідентифікованих як цитотрофобласт.

Надалі необхідно вивчити особливості процесів регуляції відмирання клітин епітеліального типу в хоріальних ворсинах плаценти.

Література. 1. Глуховец Б.И., Глуховец Н.Г. Патология последа. – СПб: ГРААЛЬ, 2002. – 448с. 2. Давиденко І.С. Напівавтоматичний кількісний комп'ютерний аналіз мікроскопічного зображення в гістопатології // Бук. мед. вісник. – 2000. – Т.4, №2. – С. 165-169. 3. Benirschke K., Kaufmann P. Pathology of the human placenta. – 4th ed. – 2002. – New York: Springer. – 974 p. 4. Haig D. Evolutionary conflicts in pregnancy and calcium metabolism – a review // Placenta, Supl.A. Trophoblast Research. – 2004. – V.18. – P.10-15. 5. Mayhew T.M., Leach L., McGee R. et al. Proliferation, differentiation and apoptosis in villous trophoblast at 13–41 weeks of gestation (including observations on annulate lamellae and nuclear pore complexes) // Placenta. – 1999. – V.20. – P.407–422. 6. Siman C.M., Sibley C.P., Jones C.J., et al. The functional regeneration of syncytiotrophoblast in cultured explants of term placenta // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. – 2001. – V. 280. – P. 1116–1122.