

© Е. А. Шаповалова,
Л. Б. Зубжицкая, О. Н. Аржанова,
О. В. Лаврова

НИИ акушерства и гинекологии
им. Д. О. Отта СЗО РАМН,
Санкт-Петербургский государственный
медицинский университет
им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург

ИММУНОМОРФОЛОГИЧЕСКОЕ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПЛАЦЕНТЫ У ЖЕНЩИН С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ РАЗЛИЧНОЙ ТЯЖЕСТИ ТЕЧЕНИЯ И ГЕСТОЗОМ

УДК: 618.3-008.6:616.248+618.46-079

■ Проведены иммуноморфологическое и иммуногистохимическое исследования плацент женщин с бронхиальной астмой различной степени тяжести и гестозом. Иммуноморфологическое исследование показало, что наибольшее число патогенных ИК в плаценте, включающих наличие фибриногена, иммуноглобулинов, провоспалительных цитокинов обнаруживается у женщин с тяжелой формой БА и гестозом — 100 % наблюдений как в центральной части плаценты, так и на периферии. В плацентах женщин с БА средней степени тяжести и гестозом частота этих депозитов была меньше: ПИК составил 70 % в центральной части плаценты и 50 % — на периферии. Наименьший процент обнаружения иммунологических депозитов был в группе женщин с легкой степенью БА и гестозом — ПИК составил 41,7 % в центре и 39,1 % — на периферии. В группах женщин без гестоза ПИК обнаружен в 100 % наблюдений при тяжелой форме БА. Отложение ПИК в плаценте приводит к развитию иммунопатологического процесса и является причиной развития плацентарной недостаточности, неблагоприятно сказывается на течении беременности и родов, а также на состоянии плода и новорожденного. Наличие гестоза у беременных с БА ухудшает исход беременности для матери и плода. Выявление ПИК в плаценте и развитие плацентарной недостаточности, а также высокая корреляция его с выявлением антиген-положительных клеток CD83 и CD31 в местах иммунологического воспаления в плацентах женщин с БА может быть прогностическим фактором возможного развития симптомов БА у ребенка.

■ **Ключевые слова:** бронхиальная астма; гестоз; плацента.

Начало XXI века характеризуется вызывающим тревогу ростом числа больных с различными аллергическими заболеваниями, среди которых первое место занимает бронхиальная астма (БА). В качестве основной причины роста числа больных аллергическими заболеваниями рассматривается усиление антигенной нагрузки на организм в эпоху экологической агрессии и вестернизации жизни.

Проведенные в последние годы исследования показали, что осложнения беременности, в частности токсикозы, плацентарная недостаточность, отставания плода в развитии, чаще отмечались у женщин, не проводивших лечение БА. И в то же время описаны случаи, когда больные со среднетяжелым и даже тяжелым течением заболевания благополучно вынашивали и рожали здоровых детей при своевременном назначении базисной терапии.

Женщины, страдающие плохо контролируемой БА, имеют большую вероятность рождения детей с малой массой тела, неврологическими расстройствами, асфиксией, врожденными пороками. Кроме того, взаимодействие плода с антигенами матери в плаценте влияет на формирование аллергической реактивности ребенка. Риск развития аллергического заболевания, в том числе БА, у ребенка составляет 45–58 %. Такие дети чаще страдают острыми респираторно-вирусными заболеваниями, бронхитами, пневмониями. Наибольший процент рождения маловесных детей наблюдается у женщин, страдающих стероидзависимой БА [6].

Анализ частоты встречаемости осложнений беременности у больных бронхиальной астмой показал, что токсикозом разной степени выраженности страдает 46,6 % женщин; угроза прерывания беременности в первом триместре отмечается в 32,0 % случаев, во втором — в 22 %, угроза преждевременных родов в 19,0 %; развитие гестоза происходит в 44,0 % случаев. Преждевременные роды отмечаются у 8,0 % больных бронхиальной астмой, запоздалые — в 5,8 % случаев (О. В. Лаврова, Автореф. докт. дисс..., СПб, 2009). По данным М. М. Шехтмана, Г. М. Бурдули [5], беременные с БА имеют повышенный риск развития раннего токсикоза (37 %), гестоза (43 %), угрозы прерывания беременности (26 %), преждевременных родов (19 %), плацентарной недостаточности (29 %). Акушерские осложнения, как правило, встречаются при тяжелом течении заболевания. Принципиальное огромное значение имеет проведение медикаментозного контроля БА. Отсутствие адекватной терапии заболевания приводит к развитию дыхательной недостаточности, артериальной гипоксемии организма матери, констрикции сосудов плаценты,

в результате чего формируется гипоксия плода. Высокая частота плацентарной недостаточности, а также невынашивания наблюдается на фоне повреждения сосудов маточно-плацентарного комплекса циркулирующими иммунными комплексами, угнетения системы фибринолиза [2, 3, 4].

Самым частым и зачастую ключевым осложнением беременности у женщин с БА являлся гестоз (43 %). В настоящее время главным звеном в механизмах развития гестоза считают генерализованное нарушение функции эндотелиальных клеток сосудов, при этом осложнению во многом свойственны черты системного воспаления [1]. Было выявлено, что у беременных с БА в конце первой половины гестации наблюдается рост содержания в периферической крови растворимых молекул адгезии sVCAM-1 и sICAM-1, что может рассматриваться как признак нарушения функционального состояния эндотелиальных клеток у этих больных [4]. В качестве ключевых факторов, ответственных за активацию эндотелиальных клеток у беременных с БА и у пациенток с гестозом, могут выступать провоспалительные цитокины. Известно, что ФНО-альфа, ИФН-гамма и ИЛ-4 способны усиливать экспрессию молекул адгезии на эндотелиальных клетках. Главными источниками цитокинов атопического воспаления являются Т-клетки. Подобные изменения в Т-клеточной активности у беременных с БА служат вероятной причиной дисбаланса в системе цитокиновой регуляции и последующей за этим активации эндотелия, что в дальнейшем способствует развитию гестоза.

Бронхиальная астма относится к заболеваниям с ярко выраженным аллергическим компонентом [5]. Этиопатогенез бронхиальной астмы может быть различным. Однако изменения иммунокомпетентной системы, выражающиеся в участии аллергических механизмов, лежат в основе выделения двух основных ее форм — атопической и инфекционнозависимой. Иммунологические нарушения при бронхиальной астме многообразны. Примерно у половины больных, особенно при инфекционнозависимой астме, выявляются циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) [6]. Состояние плаценты женщины с бронхиальной астмой мало изучено, в отечественной литературе отсутствуют данные о иммуноморфологических особенностях плаценты при данном заболевании [4].

Цель исследования

Оценить иммуноморфологическое и иммуногистохимическое состояние плаценты у женщин с бронхиальной астмой (БА) и гестозом с учетом тяжести течения БА.

Материалы и методы

Иммуноморфологическое исследование биоптатов центрального и периферического отделов плаценты проводили на криостатных срезах, обработанных по методу Cronenberg с использованием метода прямой и непрямой иммунофлюоресценции с применением специфических сывороток против цитокинов ИЛ-4 и ИЛ-6, С3 фракции комплемента человека (фирма ICN, США), а также моноклональных антител против IgA, IgM и IgG (титр 1:10), меченых ФИТЦ («Протеиновый контур», СПб). Препараты изучали в люминесцентном микроскопе Zeiss Axiostar Plus HBO 50/AC и фотографировали с помощью фотокамеры Nikon. В полученных снимках при использовании компьютерной программы Video-Test-Master оценивали интенсивность люминесцентного свечения в условных единицах (у. е.). Интенсивность свечения считали значительно выраженной при более 30 у. е. (максимальная степень свечения 320 у. е.).

Иммуногистохимический анализ проводили на криостатных срезах с использованием первичных моноклональных мышечных антител к CD83 (1:20) и биотинилированных антимиоциновых иммуноглобулинов в качестве вторичных антител. Для визуализации окраски использовали комплекс авидина с биотинилированной пероксидазой (ABC-kit) с последующим проявлением пероксидазы хрена диаминобензидином (все реагенты фирмы Dako). Для измерения площади экспрессии в процентах от площади поля зрения (S%) и оптической плотности (у. е.) использовали систему компьютерного анализа микроскопических изображений, состоящую из микроскопа Nikon Eclipse E400, цифровой камеры Nikon DXM1200, персонального компьютера на базе Intel Pentium 4, программного обеспечения AC-1, версия 2.12 и «Видеотест-Морфология 5.0».

Проведен анализ течения беременности и родов у 55 беременных, страдающих БА. Из них 27 женщин с БА легкого течения (I группа), 17 — со средней тяжестью течения (II группа) и с тяжелым течением — 11 женщин (III группа). Контрольную группу составили 20 женщин с физиологической беременностью.

Гестоз был в I группе беременных у 23 женщин из 27 (85,2%). Во II группе — у 12 из 17 (70,6%) женщин с БА средней степени тяжести и в III группе — у 6 из 11 беременных женщин (54,5%) тяжелой степени тяжести. У 54 женщин беременность закончилась срочными родами, одна беременность — преждевременными родами на сроке 28/29 недель путем операции кесарева сечения в связи с преждевременной отслойкой нормально расположенной плаценты. Гипоксия

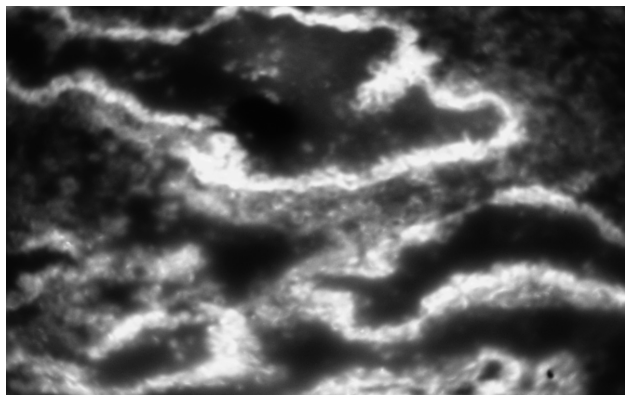


Рис. 1. Специфическое свечение С3 фракции комплемента в плаценте женщин с тяжелой формой БА и гестозом. Метод прямой иммунофлюоресценции. $\times 200$. Интенсивность свечения 280 у. е.

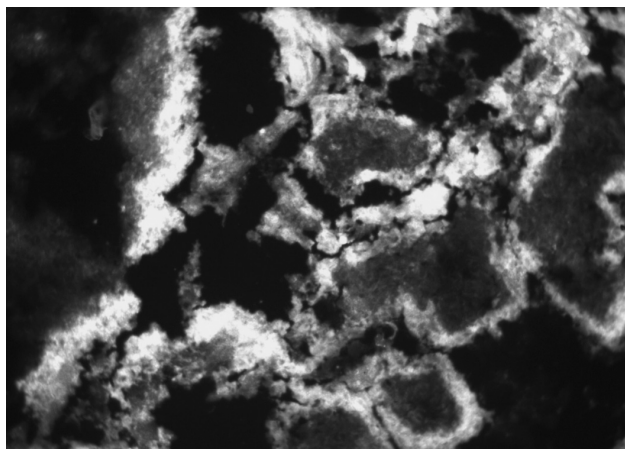


Рис. 2. Специфическое свечение IgA в плаценте женщин с тяжелой формой БА и гестозом. Метод прямой иммунофлюоресценции. $\times 200$. Интенсивность свечения 300 у. е.

плодов наблюдалась в 8 случаях у женщин с БА средней тяжести течения (47%) и в 1 (9%) случае с БА тяжелого течения. У женщин I группы гипоксии плода не было. С гипотрофией родилось 4 ребенка у женщин II группы (23,5%) и 1 ребенок (3,7%) у женщин I группы.

Результаты

Иммуноморфологическое исследование плаценты показало, что частота обнаружения патогенного иммунного комплекса (ПИК) и фибриногена была наибольшей у женщин с тяжелым течением бронхиальной астмы и гестозом — в 100% наблюдений (рис. 1) как в центральной части плаценты, так и на периферии. В наибольшем числе наблюдений обнаружены иммуноглобулины IgA и IgG — также в 100% случаев соответственно (рис. 2).

В плацентах женщин с БА средней тяжести течения и гестозом частота этих депозитов была

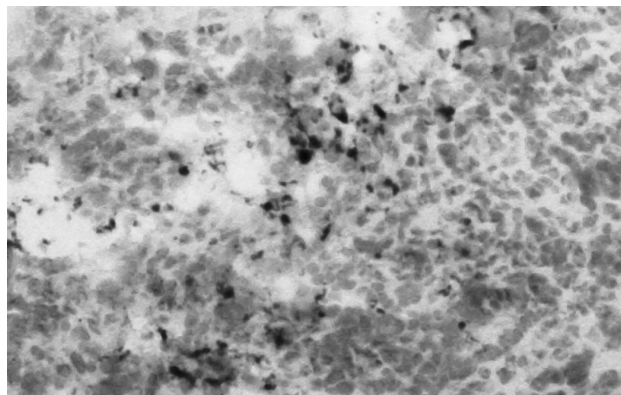


Рис. 3. Экспрессия CD31 в плаценте при бронхиальной астме. Авидин-биотиновый иммунопероксидазный метод. $\times 200$ jpg

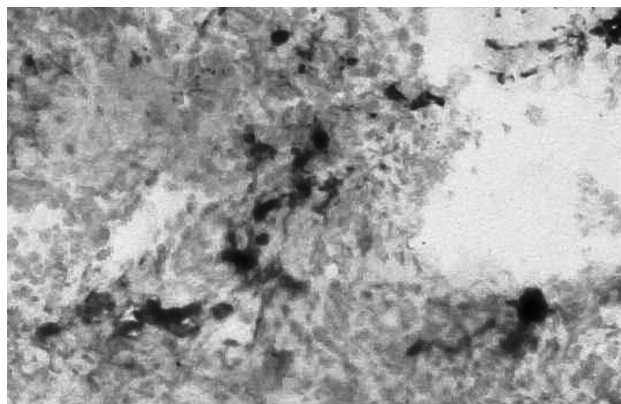


Рис. 4. Экспрессия CD83 в плаценте при бронхиальной астме. Авидин-биотиновый иммунопероксидазный метод. $\times 200$ jpg

меньше: ПИК и фибриноген составили 70% в центральной части плаценты и в 50% — на периферии. IgG обнаружен в 70% соответственно. Наименьший процент обнаружения иммунологических депозитов был в группе женщин с легким течением БА и гестозом: ПИК составил 41,7% в центре и 39,1% — на периферии. Остальные депозиты также были в меньшем числе наблюдений. Во всех группах с наименьшей частотой выявился IgM.

В группе женщин с БА легкого течения без гестоза С3 фракция комплемента составила 20% как в центре, так и на периферии плаценты. При БА средней тяжести течения без гестоза частота обнаружения ПИК составила 50% наблюдений. При тяжелой степени БА без гестоза ПИК обнаружен уже в 100% случаев. При легком течении БА без гестоза IgG обнаружен в 75% в центре и в 25% — на периферии. IgM — в 50% в центре и на периферии. При тяжелом течении БА без гестоза IgG обнаружен в 100% в центре и в 75% — на периферии. IgM — в 50% соответственно.

В группе женщин с физиологической беременностью ПИК не обнаружен, иммуноглобулины выявлены только в отдельных наблюдениях без фиксации С3 фракции комплемента.

Во всех группах в местах отложения ПИК выявлены провоспалительные цитокины такие как IL-4 и IL-6, усиливающие мобилизацию и дифференцировку эозинофилов. IL-4 выявляется во всех группах с максимальной частотой и колеблется от 60–80%. При тяжелой БА IL-4 обнаруживался от 80–100%. Частота обнаружения IL-6 была меньше и колебалась от 20–60%. IL-10, с антиаллергическим эффектом, который объясняется его способностью тормозить секрецию IL-4, во всех группах встречался с наименьшей частотой. Отложение ПИК и всех иммунологических депозитов наблюдалось на мембранах синцитиотрофобласта и мембранах эндотелия сосудов плаценты.

При гистологическом исследовании плацент в местах отложения ПИК наблюдались инволютивно-дистрофические, циркуляторные и дистрофические процессы.

В результате иммуногистохимического исследования в местах отложения ПИК и иммунологического воспаления обнаружен высокий процент экспрессии антиген-положительных клеток — макрофагов (CD83) $S=4,87$ (рис. 3). Во время воспалительного процесса тканевые макрофаги постоянно пополняются моноцитами из крови. Выявление экспрессии эндотелиального фактора в плаценте (CD31) (рис. 4) говорит о наличии гиперваскуляризации в плаценте $S=2,05$.

Заключение

Имуноморфологическое исследование показало, что наибольшее число иммунологических депозитов, фиксированных в плаценте, обнаруживается у женщин с тяжелым течением БА и гестозом, что приводит к развитию иммунопатологического процесса в тканях плаценты и является причиной развития плацентарной недостаточности, неблагоприятно сказывается на течении беременности и родов, а также на состоянии плода и новорожденного. Наличие гестоза у беременных с БА ухудшает исход беременности для матери и плода.

Выявление ПИК в плаценте и развитие хронической плацентарной недостаточности, а также высокая корреляция его с наличием антиген-положительных клеток CD83 и CD31 в местах иммунологического воспаления в плацентах женщин с бронхиальной астмой может быть прогностическим фактором возможного развития симптомов бронхиальной астмы и у ребенка [6].

Литература

1. Айламазян Э. К., Мозговая Е. В. Гестоз: теория и практика. — М.: Медпресс, 2008. — 272 с.
2. Зубжицкая Л. Б., Кошелева Н. Г., Семенов В. В. Иммуноморфологическое состояние плаценты при акушерской патологии / ред. Э. К. Айламазян. — СПб.: Норд Медиздат, 2005. — 304 с.
3. Милованов А. П. Патология системы «мать–плод»: Руководство для врачей. — М.: Медицина, 1999. — 448 с.
4. Шаповалова Е. А., Зубжицкая Л. Б. Иммуноморфологическое состояние плаценты женщин с бронхиальной астмой различной степени тяжести / Материалы III регионального научного форума «Мать и дитя». — М., 2009. — 314–315.
5. Шехтман М. М., Бурдули Г. М. Болезни органов дыхания и кровообращения у беременных. — М., 2002.
6. Fetal and neonatal IL-13 production during pregnancy and at birth and subsequent development of atopic symptoms / Williams T. J., Jones C. A., Miles E. A. [et al.] // J. Allergy Clin. Immunol. — 2000. — Vol. 105, № 5. — P. 951–959

Статья представлена И. М. Кветным,
НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта СЗО РАМН,
Санкт-Петербург

THE IMMUNOMORPHOLOGICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL CONDITION OF PLACENTA AT WOMEN WITH THE BRONCHIAL ASTHMA OF VARIOUS SEVERITY LEVELS AND GESTOSIS

Shapovalova E. A., Zubzhitskaya L. B.,
Arzhanova O. N., Lavrova O. V.

■ **Summary:** Are spent immunomorphological and immunohistochemical researches of placenta of women with a bronchial asthma of various severity levels and gestosis. Immunomorphological research has shown that the greatest number pathogenic immunologic complex in a placenta, including presence fibrinogen, antibodies and proinflammatory cytokines is found in women with heavy form of bronchial asthma and gestosis — 100% of supervision both in the central part of a placenta, and on periphery. In placenta of women with bronchial asthma, moderate severity levels and gestosis frequency of these deposits was less: the pathogenic immune complexes was at 70% in the central part of a placenta and 50% on periphery. The least percent of detectio of immunological deposits was in group of women with easy degree bronchial asthma and gestosis. The peak was at 41,7% in the center and 39,1% on periphery. In groups of women without gestosis, the pathogenic immune complexes is found in 100% of the supervision at heavy form of bronchial asthma. Adjourment pathogenic immune complexes in a placenta leads to the development of the immunopathological process and is at the bottom of the development of placentary insufficiency; adversely affects a current of pregnancy and labour, and also on the fetus and newborn condition. The presence of gestosis in pregnant women with BA worsens

an outcome of pregnancy for mother and a fetus. Revealing pathogenic immune complexes in a placenta and development of placentary insufficiency and its high correlation with revealing an antigene-positive cells CD83, CD31 in places of an immunological inflammation in placenta of women with bronchial asthma can be the prognostic factor of possible development of symptoms bronchial asthma at the child.

■ **Key words:** bronchial asthma; gestosis; placenta.

■ Адреса авторов для переписки

Шаповалова Елена Андреевна — с. н. с. I акушерского физиологического отделения патологии беременности НИИАГ им. Д. О. Отта СЗО РАМН. Россия, 199034, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3. **E-mail:** e. shapovalova@mail.ru.

Зубжичкая Людмила Борисовна — д. б. н., с. н. с. лаборатории патоморфологии НИИАГ им. Д. О. Отта СЗО РАМН. Россия, 199034, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

E-mail: lzubzhickaya@mail.ru.

Аржанова Ольга Николаевна — д. м. н., профессор, руководитель I акушерского физиологического отделения патологии беременности. Россия, 199034, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.

E-mail: arjanova_olga@mail.ru.

Лаврова Ольга Вольдемаровна — д. м. н., с. н. с. лаборатории бронхиальной астмы НИИ пульмонологии Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова Россия, 197022, Санкт-Петербург, ул. Рентгена 12.

E-mail: loverova@bk.ru.

Shapovalova Elena Andreevna — PhD, department of pathology and pathophysiology of pregnancy, D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology. Mendeleevskaia Line, 3.

199034 Russia St.-Peterburg. **E-mail:** e. shapovalova@mail.ru.

Zubzhitskaya Lyudmila Borisovna — PhD, lab. of Patology, D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology. Mendeleevskaia Line, 3.

199034 Russia St.-Peterburg. **E-mail:** lzubzhickaya@mail.ru.

Arzhanova Olga N. — Ph. D., professor, head of the department of pathology and pathophysiology of pregnancy D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, Northwest Branch of the Russian Academy of Medical Sciences 199034, Saint-Petersburg, Mendeleevskaya liniya, 3. **E-mail:** arjanova_olga@mail.ru.

Lavrova Olga V. — the senior research assistant of laboratory of a bronchial asthma of scientific research institute of pulmonology of the St.-Petersburg state medical university of a name of academician I. P. Pavlova, St.-Petersburg, 197022, street Rentgena12, ph. 2345509.

E-mail: loverova@bk.ru.