

© Л. Б. Зубжицкая,
Т. В. Семенова, О. Н. Аржанова

ФГБУ «НИИАГ им. Д. О. Отта»
СЗО РАМН,
Санкт-Петербург

ИММУНОМОРФОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ПЛАЦЕНТЫ ЖЕНЩИН ПРИ ТАБАКОКУРЕНИИ

УДК: 618.2:613.84]:618.46-07

■ Проведено иммуноморфологическое, гистологическое исследование с применением полутонких срезов биоптатов плацент женщин, связанных с табакокурением до беременности, в течение всей беременности и в I триместре беременности. Иммуноморфологические исследования плацент исследуемых групп показали, что наибольший процент выявления фиксированных патогенных иммунных комплексов (ПИК), включающих наличие фибриногена, С3 фракцию комплемента, иммуноглобулинов и провоспалительных цитокинов, наблюдался в группе женщин, которые курили всю беременность. Наименьший процент выявления ПИК был в плаценте женщины, прекративших курить до беременности. При параллельном клинико-лабораторном сопоставлении установлено, что наибольшая частота осложнений беременности наблюдается у женщин, которые курили всю беременность. При гистологическом исследовании плацент женщин изучаемых групп в области отложения ПИК наблюдаются циркуляторно-дистрофические и некротические процессы. Наиболее распространенные изменения плаценты найдены у курильщиц, беременность которых осложнялась гестозом. Повреждения мембранных структур плацентарного барьера в области отложения ПИК приводят к деструктивным изменениям плаценты, к развитию иммунопатологического процесса с нарушением иммунного гомеостаза и к развитию плацентарной недостаточности, что неблагоприятно отражается на исходе беременности и родов, а также на состоянии плода и новорожденного.

■ **Ключевые слова:** беременность; курение; плацента.

Табакокурение является фактором риска перинатальной и акушерской патологии. При табакокурении на организм оказывает влияние комплекс вредных химических факторов: никотин, угарный газ, формальдегиды, эфирные масла, бензпирен и даже радиоактивные изотопы, а также другие вредные химические вещества. Репродуктивная система является маркером, биологическим индикатором состояния окружающей среды, экологии. Она тонко реагирует на действие неблагоприятных экологических факторов, как в условиях производственной среды, так и окружающем человека мире [1] и отвечает однотипно: вне беременности — нарушением репродуктивной функции, при беременности — невынашиванием, гестозами [3, 6].

Иммунная система организма является одним из важнейших элементов гомеостаза. Экологическая иммунология, как новое направление клинической иммунологии, изучает влияние факторов физической, химической и биологической природы на иммунную систему человека и животных [8]. Прежде всего, следует отметить, что факторы внешней среды любого происхождения реализуют свои свойства на уровне клеточных мембран. Действие антигенов на иммунокомпетентные клетки на уровне клеточных мембран сопровождается образованием свободных радикалов [9]. Несвоевременная элиминация свободных радикалов приводит к обменным структурным нарушениям в клетках [4]. Известно, что в начальный период хронической интоксикации вдыхаемыми ядами отмечается временное повышение иммунологической реактивности как следствие функционального напряжения защитных сил организма. В дальнейшем при длительном воздействии неблагоприятных факторов производственной среды даже в малых дозах, близких к предельно-допустимым концентрациям, происходит переход из фазы повышенной реактивности в противоположное состояние — угнетение иммунологической реактивности. Степень угнетения функции связана с дозой действующих химических агентов. При этом основной мишенью биологических, химических и дреуб[факторов являются мембранные структуры клеток, в том числе — иммунокомпетентных, функция которых может быть угнетена.

Химические вещества, находящиеся в воздухе, вызывают аллергические и другие заболевания [9, 10]. Курение матери во время беременности влияет на местный и системный иммунный ответ. Такие изменения могут быть причиной неблагоприятных исходов беременности [11]. Они приводят к изменению иммунного статуса как беременных женщин, так и их детей, а также и состояния плаценты [5, 7]. Отмечается повышенная васкуляризация ворсинок хориона уже в первом триместре беременности у женщин, которые курили сигареты до и во время беременности по сравнению с некурящими женщинами [12].

Особое место в повреждении плаценты у лиц, контактирующих с вредными химическими веществами малой концентрации, занимают циркулирующие иммунные комплексы (ИК), обнаруженные в крови беременных (криоглобулины) и фиксированные в плаценте. В предыдущих наших работах, посвященных действию паров бензина на беременную женщину, а также вредных продуктов промышленного производства, было показано, что патологическое течение беременности может быть обусловлено не только непосредственным токсическим действием вредных веществ, но и является следствием отложения ИК в плаценте, возникающих в результате взаимодействия бензина с белками плазмы крови. Впервые было представлено экспериментально и лабораторными методами, что бензин в концентрации 3 мг/мл способен денатурировать белки сыворотки крови кроликов, придавая ей аутоантигенные свойства, выражающиеся в появлении гомологичных антител и образовании иммунных комплексов в крови с последующей их фиксацией в плаценте животного [2].

Иммуноморфологическое состояние плаценты курящих женщин мало изучено.

Цель исследования

Целью работы было изучение иммуноморфологического, гистологического состояния плаценты и клинического течения беременности женщин, курящих до беременности, в течение всей беременности и в I триместре беременности.

Материалы и методы

Обследовано 162 женщины в возрасте от 17 лет до 41 года, которые лечились в стационаре и наблюдались в женской консультации. Средний возраст составил 28 лет. Беременные были разделены на 3 группы: I — 64 женщины курили всю беременность, II — 55 женщин бросили курить в I триместре, III — 16 никогда не курили или бросили курить до беременности. Иммуноморфологическое исследование биоптатов центрального и периферического отделов плаценты проводили на криостатных средах. Кусочки свежей нефиксированной ткани плаценты замораживали в жидком азоте и помещали в криостат при $t = -20$ °C. Криостатные срезы толщиной 5 мкм обрабатывали по методу Сропенбергер с использованием метода прямой иммунофлюоресценции с применением специфических иммунных сывороток против СЗ фракции комплемента и фибриногена человека (фирма ICN, США), а также моноклональных антител против IgA, IgM, IgG (титр 1:10), меченных ФИТЦ. Для выявления провоспалительных цитокинов, участвующих в контроле воспалительной реакции использовали специфические иммунные сыворот-

ки против IL-1 β , IL-4, IL-6 человека (титр 1:25), меченых ФИТЦ («Протеиновый контур», СПб). Криостатные срезы промывали в забуференном физиологическом растворе (pH — 7,5). В течение 15 минут высушивали при комнатной температуре с последующей фиксацией в спирте (96°) в течение 5 минут. Обработку срезов специфическими сыворотками производили при комнатной температуре во влажной камере в течение 30 минут; промывали в забуференном физиологическом растворе (pH — 7,5) и высушивали при комнатной температуре. Препараты изучали в люминисцентном 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 люминисцентного свечения в условных единицах (у.е.). Интенсивность свечения считали значительно выраженной при более 30 у.е. (максимальная степень свечения 320 у.е.). Гистологическое исследование проводили методом полутонких срезов. Полутонкие срезы изготавливали на материале, залитом в эпоксидную смолу Аралдит. Срезы изготавливали на ультратоме LKB, окрашивали толудиновым синим и анализировали в микроскопе фирмы Nikon Eclipse E400 и фотографировали с помощью фотокамеры Nikon DXM-1200.

Результаты исследования

В результате клинико-лабораторного обследования были выявлены следующие особенности. Средний вес новорожденных по группам составил: в I группе — 3162 г ($\pm 119,5$ г), во II — 3612 г (± 127 г), в III — 3394 г ($\pm 171,4$ г). Была проанализирована частота рождения детей в гипоксии в зависимости от количества выкуренных сигарет. При выкуривании более 10 сигарет частота гипоксии составила 44%, менее 10 сигарет — соответственно 29,4%. Среди курящих пациенток чаще встречались беременные с метаболическими нарушениями: ожирением, сахарным диабетом и др. Гестационный диабет по группам составил: I — 14,2%, II — 6,8%, III — 3,3%. У курящих беременных достоверно выше процент гестационного диабета, чем у пациенток в группе сравнения ($p < 0,0007$). Среди курящих пациенток было характерно более тяжелое течение гестоза, чем в других группах. Распределение гестоза легкой степени по группам составило: I — 15,4%, II — 12,3%, III — 3,7%. Причем процент гестоза легкой степени в I и II группах был достоверно выше, чем в группе сравнения ($p < 0,0003$; 0,004). В структуре гестозов средняя степень тяжести по группам составила I — 32,5%, II — 14,7%, III — 0%. У курящих беременных достоверно выше частота гестоза

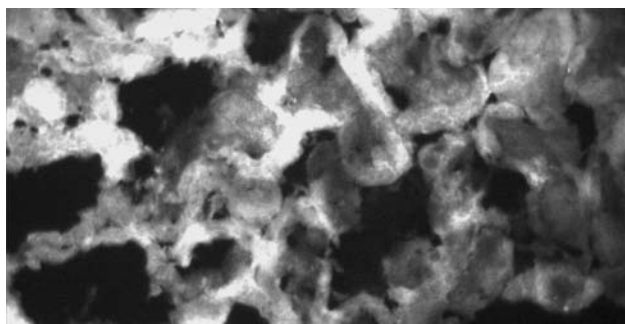


Рис. 1. Специфическое свечение С3 фракции комплемента в плаценте женщин, курящих в течение всей беременности. Метод прямой иммунофлюоресценции $\times 200$. Интенсивность свечения 280 у. е.

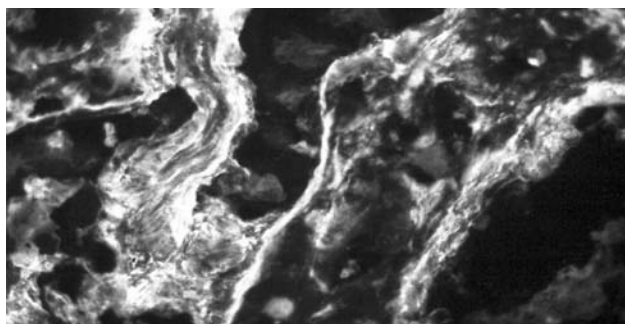


Рис. 2. Специфическое свечение фибриногена в плаценте женщин, курящих в течение всей беременности. Метод прямой иммунофлюоресценции $\times 200$. Интенсивность свечения 300 у. е.

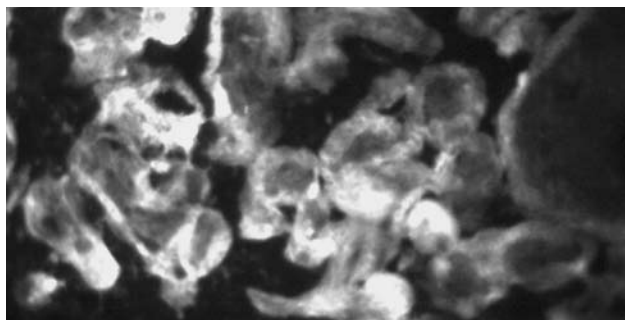


Рис. 3. Специфическое свечение цитокина IL-6 в плаценте женщин, курящих на протяжении всей беременности. Метод прямой иммунофлюоресценции $\times 200$. Интенсивность свечения 300 у. е.

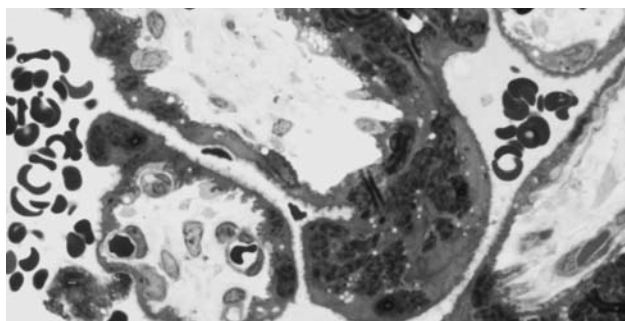


Рис. 4. Дистрофия стромы ворсин, разрушение синцитиотрофобласта и массивные отложения фибриноида в плаценте женщин, курящих всю беременность. Полутолковый срез $\times 400$

средней степени тяжести по сравнению с группой сравнения ($p \sim 0,00013$). При гистологическом исследовании плацент обследованных пациенток было выявлено наличие плацентарной недостаточности, которая по группам составила: в I группе — 35%, во II — 23,5%, в III — 8,8%. У курящих беременных чаще была выявлена субкомпенсированная плацентарная недостаточность в 23%, курящих I триместр — 11,8%, не курящих — 2,9%. Более высокая частота осложнений беременности, возникающих у курящих женщин вероятнее всего связана с повышением уровня гомоцистеина в крови. При исследовании уровня гомоцистеина у курящих беременных он достоверно выше ($p < 0,05$) и по группам составил: I — 8,4 мкмоль/л ($\pm 0,59$), II — 7,35 ($\pm 0,47$), III — 6,4 ($\pm 0,55$).

Результаты иммуноморфологического исследования биоптатов плаценты женщин показали, что патогенные иммунные комплексы (ПИК) в наибольшем числе наблюдений обнаружены у женщин, которые курили всю беременность — 100% в центре и на периферии плаценты. С3 фракция комплемента как показатель патогенности, фибриноген — показатель повышенной сосудистой проницаемости (рис. 1 и 2), а также IgA, IgM, IgG обнаружены в 100% наблюдений как в центральной части плаценты, так и на периферии. Провоспалительные цитокины IL-1 обнаружены в центральной части плаценты — 83,3%, на периферии — 66,6%. Провоспалительные цитокины IL-6 обнаружены в центральной части плаценты — 83,3%, на периферии — в 100% наблюдений (рис. 3).

В плацентах женщин, которые курили в I триместре беременности, ПИК составил 80% наблюдений как в центре так и на периферии плаценты. С3 фракция комплемента и фибриноген также обнаружены в 80% и 70% соответственно; IgA в 90% и 100%, IgM в 90% соответственно; IgG — 100% в центре и на периферии плаценты. Провоспалительные цитокины IL-1 — в 50% соответственно; IL-4 — в 70% и в 100%; IL-6 — в 90% и в 100% соответственно.

В группе женщин, прекративших курить до беременности, ПИК составил 55,5% в центральной части плаценты и на периферии; фибриноген — 71,4% соответственно. IgA — в 100% и в центре и на периферии; IgM — в 85,7% и в 55,5% соответственно. Провоспалительные цитокины также были в меньшем числе наблюдений: IL-1 — 28,5% и 42,8%; IL-4 — 42,8% соответственно; IL-6 — 85,7% и 71,4% в центре и на периферии. Отложение ПИК и всех иммунологических депозитов наблюдалось на мембранах синцитиотрофобласта и мембранах эндотелия сосудов ворсин хориона.

Сопоставление гистологического исследования и иммунолюминесцентного анализа показывает, что изменения плацентарной ткани — дистрофия

стромы и эпителия ворсин, вплоть до гибели его, избыточное отложение фибриноида (рис. 4), циркуляторные нарушения с наличием кровоизлияний в межворсинчатом пространстве, тромбов, очаги некроза в базальной мембране наблюдались преимущественно в области отложения иммунного комплекса (рис. 5, 6). У курильщиц, беременность которых осложнялась гестозом, наиболее распространенные изменения найдены при гестозе II и III степени, наряду с повреждением ткани в области отложения иммунного комплекса, обнаруживаются изменения, степень которых прямо пропорциональна тяжести и длительности гестоза. При этом в ворсинчатом хорионе имеются ишемические инфаркты разной давности. Стенка плодовых сосудов утолщена, подэпителиальные мембраны утолщены, разрыхлены, строма ворсин фиброзирована (рис. 7). В мелких терминальных ворсинах — картина ангиоматоза. Синцитиотрофобласт во многих ворсинах разрушен. При беременности, отягощенной гестозом у курильщиц в базальной мембране обнаружены кровоизлияния, в просвете материнских сосудов — тромбы. В межворсинчатом пространстве обширные отложения фибриноида. Подэпителиальные мембраны резко утолщены. Вместе с тем отмечаются резко выраженное полнокровие и расширенные капиллярной сети ворсин хориона (рис. 8).

Заключение

Проведенное исследование позволяет говорить, что табакокурение и все вредные вещества, которые содержатся в табачном дыме, действуют однотипно с веществами, которые встречаются на химических промышленных предприятиях, так как они также вызывают иммунопатологические изменения в организме беременной женщины с образованием в плаценте фиксированных патогенных иммунных комплексов.

Повреждение мембранных структур плацентарного барьера в области отложения ПИК приводит к инволютивно-дистрофическим и некротическим изменениям плаценты с нарушением иммунного гомеостаза, к развитию иммунопатологического процесса и нарушению фетоплацентарной системы. Деструктивные изменения в плаценте приводят к развитию плацентарной недостаточности, что коррелирует с неблагоприятным течением беременности — угрозой прерывания и невынашиванием беременности, гестозами, нарушением развития внутриутробного плода и адаптации новорожденного.

Литература

1. Айламазян Э.К. Репродуктивное здоровье женщин как критерий биоэкологической диагностики и контроля

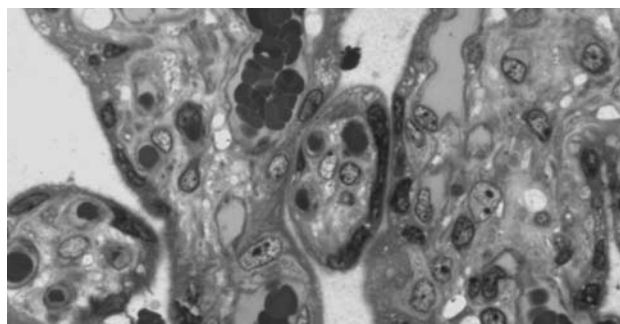


Рис. 5. Циркуляторные нарушения с наличием кровоизлияний, тромбов и очаги некроза в плацентарной ткани женщин, курящих всю беременность. Полутоновый срез $\times 400$

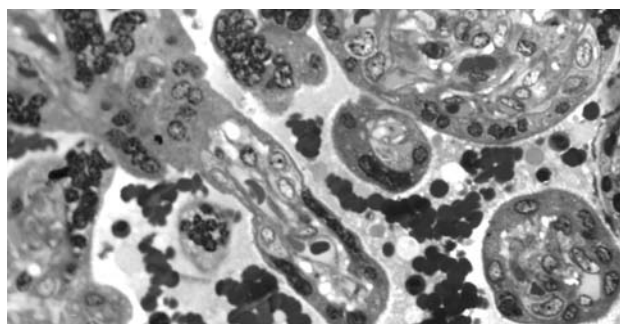


Рис. 6. Кровоизлияния в межворсинчатое пространство хориона у беременных с поздним токсикозом и куривших всю беременность. Полутоновый срез $\times 400$

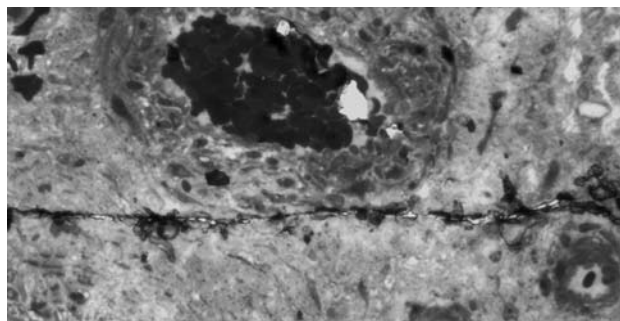


Рис. 7. Стенка плодовых сосудов утолщена, подэпителиальные мембраны утолщены, разрыхлены, строма ворсин фиброзирована в плаценте женщин, курящих всю беременность. Полутоновый срез $\times 400$

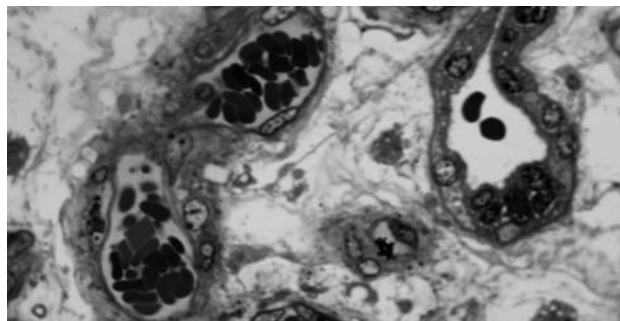


Рис. 8. Гиперплазия, полнокровие сосудов ворсин хориона в плаценте беременных с гестозом, кровоизлияния в строму ворсин курящих всю беременность. Полутоновый срез $\times 600$

- окружающей среды // Журнал акушерства и женских болезней. — 1997. — № 1. — С. 6–10.
2. *Зубжницкая Л. Б., Кошелева Н. Г., Семенов В. В.* Иммуноморфологическое состояние плаценты при акушерской патологии / ред. Э. К. Айламазян. — СПб.: Нордмедиздат, 2005. — 304 с.
 3. *Кошелева Н. Г., Зубжницкая Л. Б., Вошова Т. В.* Табакокурение — фактор риска акушерской и перинатальной патологии // Материалы II регионального научного форума «Мать и дитя». — Сочи, 2008.
 4. *Орманов Н. Ж.* Роль свободных радикалов в патогенезе хронической интоксикации соединениями фосфора // Гигиена труда. — 1998. — № 9. — С. 15–18.
 5. *Сивочалова О. В., Дудева Л. А., Голованова Г. В.* Иммунологические показатели влияния техногенных нагрузок окружающей среды на здоровье беременных женщин и детей первого года жизни // Журнал акушерства и женских болезней. — 2003. — № 2. — С. 72–76.
 6. Табакокурение — фактор риска перинатальной и акушерской патологии, профилактика его последствий / Кошелева Н. Г. [и др.] // Журнал акушерства и женских болезней. — 2011. — Т. LX, спецвып. — С. 61–62.
 7. *Тулганова Г. К.* Состояние функции фетоплацентарного комплекса у женщин, работающих на открытых угольных разрезах Экибастузского региона Павлодарской области // Рос. вестник акушеров-гинекологов. — 2002. — Т. 2, № 2. — С. 49–51.
 8. *Хаитов Р. М., Пинегин Б. В., Исгамов Х. И.* Экологическая иммунология. — М.: Изд-во ВНИРО, 1995. — 219 с.
 9. *Alderson M. R., Keast D.* The effect of ultraiolet radiation on humoral immune response, to T-dependent autigens // *Environ Res.* — 1986. — Vol. 2. — P. 321–331.
 10. *Mizrnitsky J. U., Dueva L. A.* Sansillization to industrial chemical allrgens in children noith bronchial asthma // XXII dut Congress of pediatrics: abstr. — Amsterdam, 2012. — P. 506.
 11. Smoking during pregnancy influences the maternal immune response in mice and humans / Priiis J. R. [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* — 2012. — Vol. 207, N 1. — P. 76.
 12. The effect of smoking on early chorionic villous vascularisation / Van Qppenraaij R. H. [et al.] // *Placenta.* — 2012. — Vol. 33, N 8. — P. 645–651.

■ Адреса авторов для переписки

Зубжницкая Людмила Борисовна — д. б. н., старший научный сотрудник отдела патоморфологии. ФГБУ «НИИАГ им. Д. О. Отта» СЗО РАМН, 199034, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.
E-mail: LZubzhickaya@yandex.ru

Семенова Татьяна Валерьевна — аспирант I акушерского отделения патологии беременности, врач акушер-гинеколог центра «Сахарный диабет и беременность». ФГБУ «НИИАГ им. Д. О. Отта» СЗО РАМН, 199034, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.
E-mail: semtan84@yandex.ru.

Аржанова Ольга Николаевна — д. м. н., профессор, заслуженный врач РФ, руководитель I акушерского отделения патологии беременности. ФГБУ «НИИАГ им. Д. О. Отта» СЗО РАМН, 199034, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д. 3.
E-mail: igmail@mail.ru.

Статья представлена С. А. Сельковым
 ФГБУ «НИИАГ им. Д. О. Отта» СЗО РАМН,
 Санкт-Петербург

THE IMMUNOMORPHOLOGICAL CONDITION PLACENTAE OF THE WOMEN CONNECTED WITH TOBACCO SMOKING

Zubzhitskaya L. B., Semenova T. V.,
 Arganova O. N.

■ **Summary:** Immunomorphological, histologic research with application of semi-thin cuts biopats placenta of the women connected with tobacco smoking to pregnancy, during all pregnancy and in the I trimester of pregnancy is carried out. Immunomorphological researches of placenta of studied groups showed that the greatest percent of the revealed fixed pathogenic immune complexes (PEAK) including existence fibrinogen, C3 fraction of a compliment, antibodies and pro-inflammatory cytokins, were observed in group of women which smoked all pregnancy. The smallest percent of identification PEAK was in a placenta of the women, stopped to smoke to pregnancy. By parallel kliniko-laboratory comparison it is established that the greatest frequency of complications of pregnancy is observed at women who smoked all pregnancy. At histologic research of placenta of women of studied groups in the field of adjournment the PEAK is observed tsirkulyatorno-dystrophic and necrotic processes. The most widespread changes of a placenta are found at the smokers which pregnancy became complicated the gestozy. In the field of adjournment the PEAK leads damages of membrane structures of a placental barrier to destructive changes of a placenta, to development of immunopathological process with violation of an immune homeostasis and to development of placental insufficiency that is adversely reflected in an outcome of pregnancy and childbirth, and also on a fruit and newborn condition.

■ **Key words:** pregnancy; smoking; placenta.

Zubzhitskaya Lyudmila Borisovna — Dr. Sci. Biol., the senior scientific employee of a department pathomorphology. D. O. Ott Research Institute of Obstetrica and Gynecology, RAMS, Mendeleevskaya Line, 3, Saint-Petersburg, Russia, 199034.

E-mail: LZubzhickaya@yandex.ru

Semenova Tatyana Valeryevna — graduate student of the I obstetric unit of pathology of pregnancy, doctor obstetrician-gynecologist of the “Diabetes Mellitus and Pregnancy”. D. O. Ott Research Institute of Obstetrica and Gynecology, RAMS, Mendeleevskaya Line, 3, Saint-Petersburg, Russia, 199034. **E-mail:** semtan84@yandex.ru.

Arzhanova Olga Nikolayevna — Doctor of medical science, the professor, the chief I obstetric unit of pathology of pregnancy. D. O. Ott Research Institute of Obstetrica and Gynecology, RAMS, Mendeleevskaya Line, 3, Saint-Petersburg, Russia, 199034.

E-mail: igmail@mail.ru.