

Е.С. Бурячківський

Імуноморфологічні особливості плаценти при ВІЛ-інфекції

Одеський національний медичний університет

Ключові слова: імуноморфологія, плацента, ВІЛ-інфекція.

Описано імуноморфологічні особливості плаценти при ВІЛ-інфекції, визначено за допомогою імуногістохімічних методів дослідження. Визначали інтерлейкін-продуценти (ІЛ-1 β , ІЛ-2, ІЛ-4) та колагени I, III та IV типів у тканині плацент 4 дослідних груп. Порівняльний аналіз виявив різний ступінь вираженості патологічних процесів у плаценті при ВІЛ-інфекції.

Иммуноморфологические особенности плаценты при ВИЧ-инфекции

Э.С. Бурячковский

Описаны иммуноморфологические особенности плаценты при ВИЧ-инфекции, определенные с помощью иммуногистохимических методов исследования. Определяли интерлейкин-продуценты (ИЛ-1 β , ИЛ-2, ИЛ-4) и коллагены I, III и IV типов в ткани плацент 4 исследуемых групп. Сравнительный анализ выявил различную степень выраженности патологических процессов в плаценте при ВИЧ-инфекции.

Ключевые слова: иммуноморфология, плацента, ВИЧ-инфекция.**Патология.** – 2011. – Т.8., №1. – С. 22–25**Immunomorphologic peculiarities of placenta in HIV-infection**

E.S. Buryachkovskiy

The article describes immunomorphologic peculiarities of placenta in HIV-infection, which were found with immunohistochemical methods of investigation. The investigation was targeted on finding interleukin-producing cells (IL-1 β , IL-2, IL-4) and collagens of I, III and IV type in placental tissue in four experimental groups. Comparative analysis revealed various stages of manifestation of pathologic processes in placenta in HIV-infection.

Key words: immunomorphology, placenta, HIV-infection.**Pathologia.** 2011; 8(1): 22–25

Запобігання передачі вірусу імунодефіциту людини (ВІЛ) від матері до дитини є пріоритетним завданням системи охорони здоров'я всіх країн світу й України зокрема. Інфекція ВІЛ за останні роки стала серйозною проблемою суспільної охорони здоров'я світу, що проявляється в неухильному зростанні кількості інфікованих [4]. За оцінкою ВООЗ, на Україні кількість ВІЛ-інфікованих становить більше 600 000 осіб.

Понад 90% випадків зараження дітей відбувається в результаті «вертикальної» передачі інфекції від матері. Зважаючи на те, що 48% інфікованих – це жінки, більшість із яких дітородного віку, у нашій країні помітно збільшується поширеність ВІЛ серед дітей грудного віку [5].

ВІЛ передається від матері до дитини під час вагітності, у пологах або шляхом грудного вигодовування. Трансмісія ВІЛ відбувається під час вагітності в 25–40% випадків. Трансплацентарна передача ВІЛ плоду може відбутись у будь-який термін гестації, але найчастіше – в останній місяць вагітності. Це відбувається за неспроможності матково-плацентарного бар'єра, коли створюються умови для проникнення вірусу з крові матері у плід, наприклад, при відшаруванні плаценти, хоріоамніоніті, тощо [3,7].

Одним зі способів зниження ризику передачі вірусу від матері до дитини є прийом антиретровірусних препаратів [1].

Отже, вивчення структурних змін посліду при ВІЛ-інфекції дозволить патогенетично обґрунтувати призна-

чення антиретровірусної терапії та її ефективність для профілактики антенатального інфікування плоду.

Мета роботи

Вивчити імуноморфологічні особливості послідів від ВІЛ-інфікованих жінок, від жінок з ВІЛ-інфекцією на фоні прийому заборонених препаратів, які приймали противірусне лікування та без нього.

Матеріали і методи дослідження

Об'єктами дослідження є тканини плацент від ВІЛ-інфікованих жінок (55 спостережень), розподілені на 4 групи: 10 послідів здорових жінок (I, контрольна група); 20 – від жінок з ВІЛ-інфекцією (ін'єкційний спосіб зараження під час прийому заборонених препаратів), які не отримували специфічного противірусного лікування (II група); 20 – від жінок з ВІЛ-інфекцією (ін'єкційний спосіб зараження під час прийому заборонених препаратів), які отримували специфічне противірусне лікування (III група); 10 – від жінок з ВІЛ-інфекцією (неін'єкційний спосіб зараження – IV група).

Імуногістохімічне дослідження проводили на парафінових зрізах завтовшки 5–6 мкм непрямим і прямим методами Кунса за методикою Grosman (1979). Інтерлейкін-продуценти визначали за допомогою моноклональних антитіл (МКА) до інтерлейкінів: ІЛ-1 β , ІЛ-2, ІЛ-4 (Novocastra Laboratories Ltd). Колагени типували моноклональними антитілами до колагенів I, IV типів (Novocastra Laboratories Ltd.), а також визначали МКА до колагену III типу (ІМТЕК, Ltd, Росія). У

якості люмінесцентної мітки використали F(ab)-2 – фрагменти кролячих антитіл проти імуноглобулінів миші, мічених ФІТЦ (флуоресцеїну ізотіоціанат). Препарати вивчали в люмінесцентному мікроскопі «Ахіоскор 40» («Zeiss», Німеччина). Підраховували відносний обсяг інтерлейкін-продукуючих клітин у полі зору $\times 400$. Оптичну щільність імунофлюоресценції колагенів визначали за методом Г.І. Губіної-Вакулик і співавт. [2] за допомогою мікроскопу «Ахіоскор 40» і програмного забезпечення Biostat.

Цифрові дані оброблено методами варіаційної статистики. Статистичний аналіз проведено за допомогою стандартного пакету програм Statgraphics.

Після розрахунку описових статистичних параметрів у кожній вибірці проводили перевірку на характер розподілу ознак. При гаусовському (нормальному) розподілі у вибірці однотипних ознак для їх порівняння використовували критерій Стюдента. Різницю вважали достовірною при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

Імуногістохімічне дослідження з МКА до інтерстиціального колагену I й III типів, а також до колагену IV типу, що в нормі переважно локалізується в епітеліальних і судинних базальних мембранах, виявило істотні зміни в плацентах усіх досліджуваних груп, у порівнянні з контрольною групою (табл. 1).

У дослідних групах, як і в групі контролю, інтерстиціальний колаген виявлено в стромі ворсин у вигляді світіння осередкового й лінійного характеру різної інтенсивності. Проте в основних групах (II, III й IV) інтерстиціальний колаген III типу виявлявся також і в складі синцитіоендотеліальних базальних мембран дрібних і середніх ворсин, внаслідок чого мембрани розширювались. Крім того, якщо в контрольних спостереженнях у стінках судин крупних ворсин колаген III типу виявлявся у вигляді слабкого осередкового світіння, що, ймовірно, є проявом фізіологічних інволютивних процесів, то в спостереженнях II, III й IV груп цей колаген виявлявся у названих структурах у вигляді лінійного й

інтенсивного світіння. Максимальне накопичення цього колагену виявлено в II групі, мінімальне – в спостереженнях IV групи.

При кількісній оцінці інтенсивності світіння інтерстиціального колагену у ворсинчастому хоріоні досліджених плацент відзначено достовірне збільшення оптичної щільності імунофлюоресценції колагену III типу в II групі, в першу чергу, внаслідок вираженого порушення дозрівання ворсинчастого хоріону, оскільки в стромі незрілих ворсин виявлявся переважно колаген III типу, який визначають як «молодий» колаген.

Підвищений вміст колагену III типу спостерігали також у ворсинчастому хоріоні III групи. Мінімум, в порівнянні з контролем, цей показник збільшений у спостереженнях IV групи.

Протилежні тенденції відзначено відносно зрілого колагену. Максимально оптична щільність імунофлюоресценції колагену I типу збільшена в IV групі, у посередньо – в III, мінімально, в порівнянні з контролем, показник зріс у II групі.

Колаген IV типу виявляли у складі базальних мембран синцитіотрофобласту і судин. Порівняно з контрольними випадками, в плацентах II, III і IV груп спостерігали певні особливості. Зокрема, в спостереженнях II групи в незрілих ворсинах виявлено слабе лінійне переривисте світіння цього колагену у складі судинних і синцитіальних базальних мембран. У зрілих ворсинах, навпаки, в синцитіальних і судинних базальних мембранах виявлено осередкове посилення інтенсивності світіння колагену. Як результат, усереднений показник оптичної щільності імунофлюоресценції колагену IV типу виявився дещо зниженим, порівняно з контролем у спостереженнях II групи. В спостереженнях III групи оптична щільність імунофлюоресценції колагену IV типу у складі синцитіальних і судинних базальних мембран дещо перевищує контрольний показник. Імовірно, це пов'язано зі зменшенням кількості незрілих ворсин, для яких характерне менше накопичення колагену IV типу. В IV групі спостережено достовірне збільшення оптичної

Таблиця 1

Оптична щільність інтенсивності світіння колагену у ворсинчастому хоріоні плаценти

Групи спостереження	Оптична щільність інтенсивності світіння колагену у ворсинчастому хоріоні плаценти (умовні одиниці)		
	Колаген I типу	Колаген III типу	Колаген IV типу
Контроль (1 група)	0,113 \pm 0,007	0,235 \pm 0,001	0,111 \pm 0,007
ВІЛ-інфекція (ін'єкційний спосіб зараження під час прийому заборонених препаратів) без лікування (2 група)	0,209 \pm 0,005*	0,430 \pm 0,006*	0,225 \pm 0,006*
ВІЛ-інфекція (ін'єкційний спосіб зараження під час прийому заборонених препаратів) з лікуванням (3 група)	0,230 \pm 0,009*	0,322 \pm 0,02*	0,185 \pm 0,009*
ВІЛ-інфекція (неін'єкційний спосіб зараження) (4 група)	0,337 \pm 0,025*	0,258 \pm 0,012*	0,232 \pm 0,016*

Примітка: * – $P < 0,05$, у порівнянні з контролем.

Відносна щільність клітин-продуцентів цитокінів ІЛ-2, ІЛ-4 і ІЛ-1β у ворсинчастому хоріоні плацент

Групи спостереження	Відносна щільність клітин-продуцентів цитокінів (%)		
	ІЛ-2	ІЛ-4	ІЛ-1 β
Контроль (1 група)	1,44±0,37	0,89±0,26	2,1±0,3
ВІЛ-інфекція (ін'єкційний спосіб зараження під час прийому заборонених препаратів) без лікування (II група)	0,8±0,22*	1,6±0,11*	1,3±0,07*
ВІЛ-інфекція (ін'єкційний спосіб зараження під час прийому заборонених препаратів) з лікуванням (III група)	1,2±0,14*	2,2±0,28*	1,2±0,22*
ВІЛ-інфекція (неін'єкційний спосіб зараження) (IV група)	0,7±0,15*	3,3±0,29*	4,3±0,33*

Примітка: * – P<0,05, у порівнянні з контролем.

щільності колагену IV типу у складі синцитіальних і судинних базальних мембран, що свідчить про наявність склеротичних змін.

Відомо, що в патогенезі ВІЛ-інфекції певну роль відіграють цитокіни. При ВІЛ-інфекції порушується синтез цитокінів, продукованих субпопуляціями T₄-лімфоцитів (T_h і T_h). Секреція ІЛ-2 і γ-інтерферону (прозапальні), що беруть участь у реалізації клітинного імунітету, безперервно зменшується, а ІЛ-4 і ІЛ-1β (протизапальні), що беруть участь у реалізації гуморального імунітету, – підвищується [5].

Отже, проведено імуногістохімічне дослідження плаценти з МКА до ІЛ-2, ІЛ-1β (протизапальні) й ІЛ-4 (протизапальний) у плацентах II, III та IV груп, у порівнянні з контролем. Отримані результати неоднорідні, незважаючи на те, що у всіх випадках діагностовано ВІЛ-інфекцію (табл. 2).

Серед клітин запальних інфільтратів у децидуальній оболонці, ворсинчастому хоріоні й міжворсинковому просторі виділено клітини-продуценти ІЛ-2, ІЛ-4 та ІЛ-1β. Частіше вони виявлялись у вигляді невеликих скупчень, що складаються з 3–4 клітин, траплялись також одиничні екземпляри. Для об'єктивізації результатів дослідження визначено відносні обсяги досліджуваних клітин у препаратах плаценти.

Кількість клітин-продуцентів ІЛ-2 знижена у всіх групах, максимально – в групі ВІЛ-інфекція (неін'єкційний спосіб зараження), посередньо – у групі ВІЛ-інфекція (ін'єкційний спосіб зараження під час прийому заборонених препаратів) без лікування, мінімальне, порівняно з контролем, зниження відзначено в групі ВІЛ-інфекція (ін'єкційний спосіб зараження під час прийому заборонених препаратів) з лікуванням. Як відомо, дефіцит ІЛ-2 властивий для ВІЛ-інфекції [6]. Проведене дослідження підтверджує зазначений факт відносно місцевих імунних реакцій у плаценті. Імовірно, підвищення кількості ІЛ-2 продуцентів у групі ВІЛ-інфекція (ін'єкційний спосіб зараження під час прийому заборонених препаратів) з лікуванням зумовлено специфічною терапією.

У всіх групах у місцевих імунних реакціях плаценти

збільшується активність протизапального цитокіну – ІЛ-4. Відносний обсяг клітин-продуцентів ІЛ-4 максимально підвищений у групі ВІЛ-інфекція (неін'єкційний спосіб зараження). Достатньо високий показник спостерігається також у групі ВІЛ-інфекція (ін'єкційний спосіб зараження під час прийому заборонених препаратів) з лікуванням, тоді як у групі ВІЛ-інфекція (ін'єкційний спосіб зараження під час прийому заборонених препаратів) без лікування активність ІЛ-4 продуцентів достовірно нижче такої в III та IV групах, але достовірно вище контрольної. За даними спеціальної літератури, при ВІЛ-інфекції спостерігається активація ІЛ-4 продукції [9]. Можливо, вживання заборонених препаратів гальмує активність цих клітин.

Цікаві результати отримано відносно клітин-продуцентів прозапального цитокіну ІЛ-1β. Достовірне збільшення популяції цих клітин спостерігається в запальних інфільтратах плацент при ВІЛ-інфекції (неін'єкційний спосіб зараження), що відповідає даним спеціальної літератури, згідно з якими через постійну активацію мононуклеарів при ВІЛ-інфекції спостерігається гіперфункція прозапального цитокіну (ІЛ-1β) [10]. Водночас, за нашими даними, при ВІЛ-інфекції (ін'єкційний спосіб зараження під час прийому заборонених препаратів) без лікування і ВІЛ-інфекції (ін'єкційний спосіб зараження під час прийому заборонених препаратів) з лікуванням виявлено достовірне зменшення відносного обсягу цих клітин. Імовірно, це пов'язано з впливом заборонених препаратів.

У IV групі (ВІЛ-інфекція, неін'єкційний спосіб зараження) спостережено склеротичні процеси у ворсинчастому хоріоні у вигляді надмірного утворення колагену I типу, що є, як відомо, зрілим колагеном. Окрім зрілого колагену, у ворсинчастому хоріоні підвищується вміст молодого інтерстиціального колагену III типу. Можливо, це пов'язано з максимальною активацією клітин-продуцентів ІЛ-1β саме в цій групі спостережень. Відомо, що ІЛ-1β здатний стимулювати проліферацію і диференціювання фібробластів, посилювати їх функціональну активність і навіть «перемикати» на синтез

іншого колагену [8]. При неускладненій вагітності виявляється низький рівень ІЛ-1 β [11].

Однак дефіцит клітин-продуцентів цього цитокіну у ворсинчастому хоріоні II та III груп (у порівнянні з контролем і IV групою) може відігравати певну роль у порушенні дозрівання ворсинчастого хоріону, що підтверджується показником відносного обсягу незрілих ворсин й особливостями колагенотворення. Зазначена специфіка полягає у переважанні в стромі ворсин молодого інтерстиціального колагену III типу, здатного дозрівати в зрілий колаген I типу. Дефіцит останнього може бути пов'язаний як з порушенням дозрівання, так і з дисфункцією фібробластів, здатних синтезувати цей колаген.

Збільшення кількості клітин-продуцентів ІЛ-4 у ворсинчастому хоріоні також може сприяти розвитку склеротичних процесів.

Висновки

Імуноморфологічне дослідження виявило наявність різного ступеня порушення дозрівання плаценти при ВІЛ-інфекції, залежно від досліджуваної групи. При кількісній оцінці інтенсивності світіння інтерстиціальних колагенів у ворсинчастому хоріоні спостерігалось збільшення оптичної щільності імунофлюоресценції молодих колагенів, насамперед, у тканині плацент II групи. Для зрілого колагену спостережено зворотну залежність. Максимальна оптична щільність імунофлюоресценції колагену I типу відзначається в тканині плацент IV групи.

При ВІЛ-інфекції порушується синтез цитокінів, що продукуються субпопуляціями T₄-лімфоцитів (T α -1 та T α -2). Секреція ІЛ-2 й γ -інтерферону безупинно зменшується, а ІЛ-4 і ІЛ-1 β – підвищується. Ці зміни найбільш яскраво виражені в тканині плацент II групи.

Отримані результати свідчать про різний ступінь вираженості патологічних процесів у плаценті при ВІЛ-інфекції.

Відомості про автора:

Бурячківський Е.С., асистент каф. патоморфології ОНМУ.

Адреса для листування:

Бурячківський Едуард Станіславович. 67700, Одеська область, м. Білгород-Дністровський, вул. Кишинівська, 127.

Тел.: (050) 527 44 74.

E-mail: edik1973@ukr.net

Література

1. *Genne H.A.* Мероприятия, направленные на профилактику передачи ВИЧ-инфекции от матери ребенку/ Геппе Н.А., Колосова Н.Г., Вартапетова Н.В., Карлушкина А.В. // Гинекология. – 2009. – №6 (11). – С. 20–23.
2. Пат. на корисну модель Спосіб кількісного визначення вмісту антигену в біологічних тканинах / Губіна-Вакулик Г.І, Сорокіна І.В., Марковський В.Д, Купріянова Л.З, Сидоренко Р.В. – №46489 G01N 33/00, опубл. 25.12.2009, Бюл. №4.
3. *Долгушина Н.В.* Вирусные инфекции у беременных: руководство для врачей / Долгушина Н.В., Макацария А.Д. – Москва: Триада-Х, 2004. – 144 с.
4. *Прейс Дж.* Епідемія ВІЛ/СНІДу і людський розвиток на початку ХХІ століття: дослідження на прикладі Уганди й Естонії / Прейс Дж., Копп Дж. // Інфекційні хвороби. – 2010. – №1 (59). – С. 59–66.
5. *Садовникова В.Н.* Эпидемиологические особенности ВИЧ-инфекции у беременных женщин и рожденных ими детей / Садовникова В.Н. // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2010. – №1. – С. 8–14.
6. Сигнальные молекулы – маркеры зрелости плаценты / [Кветной И.М., Айламазян Э.К., Лапина Е.А., Колобов А.В.] – М.: Медпресс-информ, 2005. – 96 с.
7. *Цинзерлинг В.А.* Перинатальные инфекции: практическое руководство / Цинзерлинг В.А., Мельникова В.Ф. – СПб.: Элби СПб, 2002. – 352 с.
8. *Mc. Arthur W.* Immune modulation of connective tissue functions: studies on the production of collagen synthesis inhibitory factor by population of human peripheral blood mononuclear cells / Mc. Arthur W., et.al. // Cell. immun. – 1982. – V. 72. – №1. – P. 126–139.
9. *Migliaccio C.T.* The IL-4 Ralpha pathway in macrophages and its potential role in silica-induced pulmonary fibrosis / Migliaccio C.T., Buford M.C., Jessop F., Holian A.J. // Leukoc Biol. – 2008. – №83 (3). – P. 630–639.
10. *Rosenblom J.* Characterisation of a lymphokine produced by human T-cells which inhibits collagen synthesis / Rosenblom J., et.al. // Cell. Immun. – 1983. – V. 81. – №1. – P. 192–198.
11. *Steinborn A.* Cytokine release from placental endothelial cells, a process associated with preterm labour in the absence of intrauterine infection / Steinborn A., Niederhut A., Solbach C., Hildenbrand R., Sohn C., Kaufmann M. // Cytokine. – 1999. – №11 (1). – P. 66–73.