

## ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ CD35 И CD57 В ПЛАЦЕНТЕ ПАЦИЕНТОК С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

© Ю.Р. Дымарская<sup>1</sup>, Л.Б. Зубжицкая<sup>2</sup>, О.В. Лаврова<sup>3</sup>, Е.А. Шаповалова<sup>2</sup>, Д.С. Судаков<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург;

<sup>2</sup>ФГБНУ «НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Для цитирования: Журнал акушерства и женских болезней. – 2017. – Т. 66. – № 3. – С. 49–59. doi: 10.17816/JOWD66349-59

Поступила в редакцию: 05.04.2017

Принята к печати: 19.05.2017

■ **Введение.** Распространенность бронхиальной астмы (БА) среди беременных достигает 12 %. Акушерские осложнения (гестоз, плацентарная недостаточность, гипотрофия плода и др.) возникают преимущественно при отсутствии контроля заболевания. Роль плацентарных факторов в патогенезе акушерских и перинатальных осложнений остается неизученной. **Цели и задачи:** изучить особенности экспрессии маркеров незрелых дендритных клеток (CD35) и натуральных киллеров (CD57) в плаценте больных БА в зависимости от степени тяжести, уровня контроля и вида терапии. **Методы.** В исследовании приняли участие 200 беременных, из них 170 с бронхиальной астмой (44 пациентки с легким интермиттирующим течением БА, 52 — с легким персистирующим течением БА, 61 — с БА средней тяжести и 13 — с БА тяжелого течения) и 30 без легочных и аллергических заболеваний. Проанализированы особенности течения и исходов беременности в зависимости от тяжести течения, контроля и характера проводимой терапии; проведено иммуногистохимическое исследование образцов плаценты 134 обследованных пациенток с определением экспрессии CD35 (маркера незрелых дендритных клеток) и CD57 (маркера НК-клеток) на криостатных срезах, а также иммуноморфологическое исследование плаценты с определением фиксации патогенных иммунных комплексов (ПИК), IL-6, IL-4, IL-10 в плаценте. **Результаты.** Для больных БА характерно усиление экспрессии CD35 в плаценте, при этом у пациенток, перенесших гестоз, отмечается меньшая площадь экспрессии CD35, особенно при обострении БА в III триместре. При персистирующей БА и не полностью контролируемом ее течении происходит усиление экспрессии маркера натуральных киллеров (CD57) в плаценте, коррелирующее с наличием ПИК, IL-6, IL-4, IL-10 и воспалительных изменений в плаценте. **Выводы.** Результаты исследования позволяют предположить, что сочетание неконтролируемого течения персистирующей БА и гестоза, по-видимому, вызывает истощение механизмов иммунного ответа, выражающееся в снижении экспрессии CD35. Повышение экспрессии маркера НК-клеток (CD57) в плаценте при наличии не полностью контролируемой и персистирующей БА указывает на усиление у данной субпопуляции клеток цитотоксической роли, что приводит к морфологическим и иммунным изменениям плаценты, негативно влияющим на развивающийся плод и на состояние новорожденного.

■ **Ключевые слова:** бронхиальная астма; плацента; дендритные клетки; натуральные киллеры.

## EXPRESSION OF CD35 AND CD57 IN PLACENTA OF WOMEN WITH ASTHMA

© Y.R. Dymarskaya<sup>1</sup>, L.B. Zubzhitskaya<sup>2</sup>, O.V. Lavrova<sup>3</sup>, E.A. Shapovalova<sup>2</sup>, D.S. Sudakov<sup>1</sup>

<sup>1</sup>North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia;

<sup>2</sup>FSBSI “The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott”, Saint Petersburg, Russia;

<sup>3</sup>I.P. Pavlov First St Petersburg State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia

For citation: Journal of Obstetrics and Women’s Diseases. 2017;66(3):49-59. doi: 10.17816/JOWD66349-59

Received: 05.04.2017

Accepted: 19.05.2017

■ **Background.** Prevalence of asthma (BA) among pregnant women reaches 12%. Obstetric complications (preeclampsia, placental insufficiency, IUGR, etc.) mainly occur in the absence of control of asthma. Aspects of the placenta status in women with chronic allergic respiratory disease are not well understood. **Purposes and tasks** — studying the expression of markers of immature dendritic cells (CD35) and natural killer (CD57) cells in the placenta of patients with asthma, depending on the of severity, control and the type of therapy. **Materials and methods.** The study involved 200 pregnant women, including 170 with asthma (44 patients with mild intermittent, 52 with mild persistent, 61 with moderate and 13 with severe asthma), and 30 patients without pulmonary and allergic diseases. We analyzed complications and pregnancy outcomes, conducted the immunohistochemical study of placental samples of 134 patients for the expression of CD35 (marker of immature dendritic cells) and CD57 (marker of NK cells) on cryostat sections, immunomorphological study of the placenta with determination of the fixation of pathogenic immune complexes (PIC), IL-6, IL-4, IL-10 in the placenta. **Results.** CD35 expression in the placenta of women with asthma is increased, while in patients undergoing preeclampsia CD35 expression is lower, especially in cases of uncontrolled asthma in the 3rd trimester. In all cases with persistent and incompletely controlled asthma, the expression of the natural killer marker (CD57) in the placenta correlates with the presence of PIC, IL-6, IL-4, IL-10 and inflammatory changes in the placenta. **Conclusions.** The results of the study suggest that a decrease in CD35 expression in cases with the combination of uncontrolled persistent asthma and preeclampsia seems to deplete the mechanisms of the immune response. Increased NK cell marker expression (CD57) in the placenta of women with uncontrolled and persistent asthma indicates on the cytotoxic role of this subpopulation of cells, leading to morphological and immune changes in the placenta that adversely affect the fetus and newborn.

■ **Keywords:** asthma; placenta; dendritic cells; natural killers.

## Введение

Бронхиальная астма (БА) представляет одно из частых хронических заболеваний у женщин детородного возраста. Распространенность заболевания среди беременных в России колеблется в пределах 5–12 % в зависимости от региона [1–3]. Проведенное в женских консультациях Санкт-Петербурга скрининговое исследование выявило, что симптомы БА имеются у 11,9 % беременных женщин [4].

В литературе последних лет указывается, что отсутствие контроля заболевания во время беременности сопряжено с повышенным риском развития серьезных осложнений, способных весомо повлиять на исход беременности как для матери, так и для новорожденного [5–8]. В то же время считается, что при легком и средне-тяжелом течении БА, при условии соблюдения существующих стандартов в терапии заболевания, исход родов будет благоприятным [9].

Условия для физиологического течения беременности и нормального развития плода определяются главным образом правильным формированием сосудистой сети плаценты, поддержанием в ней определенного гормонального баланса на протяжении беременности. Наряду с этим в последнее время особое внимание отводится иммунным факторам. Известно, что эндотелиальная дисфункция, активация тромбоцитарно-сосудистого звена системы гемостаза, служащие основой для развития гестоза, регулируются в том числе иммунным гомеостазом [10].

Доказано также, что плацентарный путь является основным в пренатальной передаче цитокинов от матери плоду [11]. В период имплантации ряд важнейших функций, необходимых для развития плода и пролонгирования беременности, берет на себя популяция дендритных клеток, которые, подобно макрофагам, выполняют антигенпрезентирующую функцию в отношении зрелых Т-лимфоцитов, а также активируют наивные Т-клетки [12]. В то же время описано, что при задержке внутриутробного развития плода отмечается уменьшение их концентрации в циркулирующей крови, что указывает на их возможное влияние на васкулогенез плаценты [13]. Считается, что дендритные клетки индуцируют воспалительный ответ, однако есть сведения об их способности к проявлению толерантности, что является патогенетически важным при аллергических заболеваниях, таких как БА [14–16].

На более поздних сроках беременности ряд функций по защите плода от инфекции выполняют НК-клетки, способные вызывать лизис клеток без развития реакций иммунного ответа посредством взаимодействия с макрофагами и высвобождения провоспалительных цитокинов. В экспериментальных работах показано, что НК-клетки регулируют и процессы плацентации, влияя на преобразование спиральных артерий через продукцию проангиогенных факторов (таких, как VEGF) [17]. Участие НК-клеток в патогенезе БА нельзя считать однозначным — имеются данные об

их мобилизации в легочную ткань при обострении инфекционно-зависимой БА [18]. А. Awad (2014) было показано разнонаправленное участие NK-клеток в эозинофильном воспалении: NK-клетки могут и активировать эозинофилы, и индуцировать их апоптоз [19].

Иммуногистохимические особенности плаценты исследованы недостаточно. Плацента, с одной стороны, является иммунокомпетентным органом, а с другой — органом-мишенью, в котором реализуются иммунологические изменения, в связи с этим плацента является интереснейшим объектом научного исследования с точки зрения иммунологии, а при аллергических заболеваниях изучение особенностей состояния плаценты представляет особый интерес.

Цель исследования заключалась в определении особенностей экспрессии иммуногистохимических маркеров незрелых активированных дендритных клеток (CD35) и натуральных киллеров (CD57) в плаценте больных бронхиальной астмой в зависимости от степени тяжести ее течения, уровня контроля и вида терапии.

## Материалы и методы исследования

В исследование было включено 200 беременных, из них 170 — с БА и 30 пациенток группы контроля.

Пациентки, страдавшие БА, были направлены врачами акушерами-гинекологами и терапевтами женских консультаций Санкт-Петербурга для консультации пульмонолога в НИИ пульмонологии ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ имени И.П. Павлова» МЗ РФ. Наблюдение больных БА велось пульмонологом и акушером-гинекологом на протяжении всего периода беременности с момента обращения.

По результатам обследования беременные с БА были разделены на четыре категории в зависимости от тяжести течения основного заболевания:

- 44 пациентки с легким интермиттирующим течением БА (БАЛТи);
- 52 пациентки с легким персистирующим течением БА (БАЛТп);
- 61 пациентка со среднетяжелым персистирующим течением БА (БАСТ);
- 13 пациенток с тяжелым персистирующим течением БА (БАТТ).

В дальнейшем при изучении особенностей течения беременности у обследованных больных мы сформировали две группы беременных с БА, каждая из которых, в свою очередь, была разделена на три подгруппы.

*Основная группа* — беременные, страдающие БА без клинических и/или лабораторных проявлений гестоза — 87 человек:

- 1) беременные с легким интермиттирующим течением БА (БАЛТи) — 19 пациенток;
- 2) беременные с легким персистирующим течением БА (БАЛТп) — 24 пациентки;
- 3) беременные со среднетяжелым и тяжелым персистирующим течением БА (БАСТ + БАТТ) — 44 пациентки.

*Группа сравнения* — беременные, страдающие БА с осложненным гестозом течением беременности — 83 женщины:

- 1) беременные с БАЛТи — 25 пациенток;
- 2) беременные с БАЛТп — 28 пациенток;
- 3) беременные БАСТ + БАТТ — 30 пациенток.

*Контрольная группа* — беременные без легочных и аллергических заболеваний из общей популяции — 30 пациенток.

Оценка степени контроля БА проводилась всем беременным по следующим критериям (GINA, 2007):

- минимум или отсутствие дневных или ночных симптомов;
- минимальные проявления или отсутствие обострений;
- отсутствие ограничений активности: нет пропусков учебы или работы;
- поддержание нормальной (или близкой к нормальной) дыхательной функции;
- минимальное использование ингаляционных  $\beta_2$ -агонистов короткого действия;
- минимум или отсутствие побочных эффектов от препаратов.

Согласно данным критериям выделялись уровни контроля БА:

- контролируемая;
- частично контролируемая;
- неконтролируемая;
- обострение.

Характер терапии с момента наступления беременности и обращения пациентки к пульмонологу и на протяжении беременности корректировался в соответствии с представлениями о ступенчатом подходе к терапии БА. Всем больным с обострением БАЛТи, а также больным с персистирующим течением заболевания были назначены ингаляционные глюкокортикостероиды (ИГКС) в адекватных дозах в сочетании с коротко- или длительно действующими  $\beta_2$ -агонистами.

Для дальнейшего исследования плаценты произведена рандомизация всех обследованных пациенток. Таким образом, нами было изучено 134 образца плаценты женщин с БА:

28 пациенток с БАЛТи, 37 — с БАЛТп, 41 — с БАСТ и 13 — с БАТТ. Для сравнения отобрано 15 образцов плаценты женщин контрольной группы. Необходимо отметить, что описанные ниже клинические критерии (осложнения беременности, родов, показатели состояния новорожденных) в отобранной группе больных БА были близкими к таковым для общей популяции обследованных нами пациенток.

Гистологическое исследование плаценты проводили методом полутонких срезов, которые изготавливали на материале, залитом в эпоксидную смолу (Эпон-Аралдит). Срезы изготавливали на ультратоме (ЛКВ, Швеция), окрашивали толуидиновым синим, анализировали в микроскопе Nikon Eclipse E400 (Япония) и фотографировали с помощью фотокамеры Nikon-DXM 1200 (Япония).

Иммуногистохимический анализ плаценты проводили на криостатных срезах толщиной 5–8 мкм. Использовали первичные моноклональные мышиные антитела CD35 (1 : 40–1 : 80, Novocastra, Великобритания), CD57 (1 : 50, Novocastra, Великобритания). В качестве вторичных антител применяли реагент из универсального набора DAKO EnVision™ + System — биотинилированные антимышинные иммуноглобулины. Для визуализации окрасок использовали комплекс авидина с биотинилированной пероксидазой (ABC-Kit) с последующим проявлением пероксидазы хрена диаминобензидином (все реактивы фирмы Dako Citamation, Дания). Для измерения площади зрения ( $S$  %) и оптической плотности (относительные единицы — отн. ед.) использовали систему компьютерного анализа микроскопических изображений, состоящую из микроскопа Eclipse E400 (фирма Nikon, Япония), цифровой камеры DXM 1200 (фирма Nikon, Япония), персонального компьютера на базе Intel Pentium 4, программного обеспечения AC1, версия 2.12, и «Морфология 5.2» (фирма Видеотест, РФ).

Иммуноморфологическое исследование биоптатов центрального и периферического отделов плаценты осуществляли на криостатных срезах, обработанных по методу A. Cronenberger (1988) с использованием метода прямой и непрямой иммунофлюоресценции и специфических сывороток к провоспалительным цитокинам IL-4, IL 6, IL-10, С3-фракции комплемента человека (фирма ICN, США), меченных ФИТЦ («Протеиновый контур», СПб). Препараты изучали в люминесцентном микроскопе Axiostar Plus HBO 50/AC (фир-

ма Zeiss, Германия) и фотографировали с помощью фотокамеры DXM 1200 (фирма Nikon, Япония). В полученных снимках при помощи компьютерной программы Video-Test-Master (Видеотест, РФ) оценивали интенсивность люминесцентного свечения в условных единицах. Интенсивность свечения считали значительно выраженной при более 30 усл. ед. (максимальная степень свечения — 320 усл. ед.).

Статистическую обработку проводили с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel 2013 (Microsoft Corporation, США) и Statistica 7.0 (StatSoft, США).

### Результаты исследования

Аллергическая БА диагностирована у 77,05 % (131 беременная), смешанный генез БА был в большей степени характерен для пациенток с БАСТ + БАТТ (22,4 %); аспириновая БА диагностирована у 1 пациентки, носила среднетяжелое течение, беременность в этом случае протекала без гестоза.

Отмечено, что на фоне беременности ухудшение течения заболевания отметили 73,5 % пациенток, лишь у 26,5 % течение БА не изменялось или улучшалось. По мере прогрессирования беременности под влиянием мониторинга беременных и благодаря назначенной терапии увеличивалось число больных с контролируемым течением БА, и к моменту родоразрешения примерно у 73 % всех обследованных был достигнут контроль заболевания.

К моменту наступления беременности ингаляционные препараты, содержащие глюкокортикостероиды, получали только 40 пациенток (23,5 %), уже в I триместре беременности количество получавших ИГКС увеличилось до 106 (62,3 %), а к концу беременности составило 121 (71,1 %,  $p < 0,001$ , по сравнению с процентом пациенток, получавших ИГКС с момента наступления беременности).

У большинства беременных группы сравнения преобладал чистый гестоз (60,2 %) легкой степени тяжести (85,5 %); реже наблюдался гестоз средней степени тяжести (14,5 %).

Хроническая плацентарная недостаточность (ХПН) встречалась в 16,5 % случаев, и частота осложнения была выше в группе больных с гестозом (20,5 %), чем в основной группе (12,6 %), увеличиваясь соответственно тяжести течения БА ( $r = 0,22$ ,  $p < 0,05$ ). Диагноз ХПН подтверждался доплерографическим исследованием маточно-плацентарного и плодово-плацентарного кровотока, по результатам которого до-

стоверные изменения показателей резистентности сосудов (СДО и ИР) в артерии пуповины и маточных артериях наблюдались у пациенток с персистирующими формами БА и гестозом, увеличение средних значений при этом происходило параллельно нарастанию тяжести БА ( $r = 0,41, p = 0,000000004$ ).

Подавляющее большинство обследованных пациенток было родоразрешено при доношенном сроке. Преждевременные роды в сроке 34–37 недель произошли в 3,53 % случаев (6 наблюдений).

Частота родоразрешения операцией кесарева сечения составила в среднем 37,65 %, нарастая с утяжелением БА ( $p < 0,05$ ). Наиболее частыми показаниями для кесарева сечения были гипоксия плода (22 %), несостоятельность или наличие рубца на матке (20 %), совокупность нескольких акушерских показаний (тазовое предлежание плода, крупный плод, узкий таз, отягощенный акушерско-гинекологический

анамнез (ОАГА) и др.), аномалии сократительной деятельности матки.

Выявлена отрицательная корреляционная связь показателей массы тела новорожденных с тяжестью течения БА как в основной группе ( $r = -0,22, p < 0,05$ ), так и в группе с гестозом ( $r = -0,24, p < 0,05$ ), а также определено, что средние значения массы тела новорожденного коррелировали с наличием обострения заболевания в I триместре беременности (табл. 1).

Замедление нормализации функционального состояния новорожденных, подтвержденное оценкой по шкале Апгар на 5-й минуте жизни, отмечено в подгруппах пациенток с БАСТ + БАТТ без признаков гестоза ( $p = 0,000037$  по сравнению с БАЛТп,  $p = 0,008$  по сравнению с контролем) и с гестозом ( $p = 0,000034$  по сравнению с БАЛТп,  $p = 0,0013$  по сравнению с контролем). Достоверные различия получены при анализе характера течения БА в I триместре беременности (см. табл. 1).

Таблица 1

Средние показатели массы и оценки по шкале Апгар на пятой минуте жизни новорожденных от матерей исследованных групп, перенесших обострение бронхиальной астмы в I триместре

Table 1

Average mass and assess Apgar at 5 minutes of life of newborns from mothers of the studied groups who have had an asthma exacerbation in the 1st trimester

Варианты	Группа	n	Обострение БА в I триместре Масса ( $M \pm m$ ) (I)	Ремиссия БА в I триместре Масса ( $M \pm m$ ) (II)	Достоверность различий ( $p$ )	
Масса новорожденных (г)	БАЛТи	1	19	3310,0 ± 266,4	3405,6 ± 115,4	N/S
	БАЛТп	2	24	3342,3 ± 128,0	3426,3 ± 139,1	N/S
	БАСТ + БАТТ	3	44	3212,3 ± 90,5	3240,5 ± 108,7	N/S
	БАЛТи + гестоз	4	25	3596,8 ± 98,4	3933,3 ± 124,4	< 0,05
	БАЛТп + гестоз	5	28	3434,6 ± 99,1	3732,3 ± 107,0	< 0,05
	БАСТ + БАТТ + гестоз	6	30	3279,1 ± 94,2	3493,3 ± 188,4	N/S
Достоверность различий				2–4 $p = 0,047$ 2–5 $p = 0,032$ 3–4 $p = 0,01$ 3–5 $p = 0,001$ 4–6 $p = 0,022$ 5–6 $p = 0,004$	3–4 $p = 0,016$	
Оценка по шкале Апгар на 5-й минуте жизни (баллы)	БАЛТи	1	19	8,33 ± 0,21	8,56 ± 0,12	$p < 0,05$
	БАЛТп	2	24	8,84 ± 0,14	8,54 ± 0,16	N/S
	БАСТ + БАТТ	3	44	8,15 ± 0,10	8,22 ± 0,12	N/S
	БАЛТи + гестоз	4	25	8,33 ± 0,31	8,27 ± 0,11	N/S
	БАЛТп + гестоз	5	28	8,53 ± 0,14	8,8 ± 0,13	N/S
	БАСТ + БАТТ + гестоз	6	30	8,08 ± 0,11	8,0 ± 0,22	N/S
Достоверность различий				2–3 $p = 0,00022$ 2–6 $p = 0,000065$ 3–5 $p = 0,03$ 5–6 $p = 0,015$	1–6 $p = 0,02$ 2–6 $p = 0,048$ 3–5 $p = 0,0025$ 4–5 $p = 0,004$ 5–6 $p = 0,0025$	

Примечание: БАЛТи — бронхиальная астма с легким интермиттирующим течением; БАЛТп — бронхиальная астма с легким персистирующим течением; БАСТ + БАТТ — бронхиальная астма со среднетяжелым и тяжелым персистирующим течением

## Результаты исследования плаценты

Проведенное иммуногистохимическое исследование плаценты показало, что в плаценте родильниц с БА площадь экспрессии CD35<sup>+</sup> незрелых активированных дендритных клеток (ДК) достоверно выше, чем в контрольной группе (табл. 2). Оптическая плотность при рассмотрении категорий больных по степени

тяжести имела тенденцию к увеличению (различия недостоверны).

В группе пациенток без гестоза площадь и оптическая плотность экспрессии CD35<sup>+</sup> нарастают с утяжелением БА, в то время как при наличии гестоза площадь экспрессии CD35<sup>+</sup> обратно пропорциональна степени тяжести основного заболевания, а оптическая плотность максимальна при БАСТ + БАТТ (табл. 3).

Таблица 2

Экспрессия CD35<sup>+</sup> в ткани плацент женщин с бронхиальной астмой различной степени тяжести

Table 2

Expression of CD35<sup>+</sup> in the placenta tissue of women with asthma

Варианты	Группа		n	Среднее значение (M ± m)	Достоверность различий (p)
Площадь экспрессии CD35 <sup>+</sup> , %	БАЛТи	1	28	11,99 ± 1,76	<b>F = 2,4644,</b> <b>p = 0,04829</b> <b>1-5 p = 0,008</b> <b>3-5 p = 0,03</b> <b>4-5 p = 0,008</b>
	БАЛТп	2	37	8,71 ± 1,53	
	БАСТ	3	41	9,91 ± 1,45	
	БАТТ	4	13	13,45 ± 2,58	
	Контроль	5	15	4,0 ± 2,4	
Оптическая плотность CD35 <sup>+</sup> , отн. ед.	БАЛТи	1	28	0,16 ± 0,10	<b>F = 1,4919, p = 0,208</b> <b>N/S</b>
	БАЛТп	2	37	0,19 ± 0,08	
	БАСТ	3	41	0,40 ± 0,08	
	БАТТ	4	13	0,25 ± 0,14	
	Контроль	5	15	0,13 ± 0,13	

*Примечание:* БАЛТи — бронхиальная астма с легким интермиттирующим течением; БАЛТп — бронхиальная астма с легким персистирующим течением; БАСТ — бронхиальная астма со среднетяжелым персистирующим течением; БАТТ — бронхиальная астма с тяжелым персистирующим течением

Таблица 3

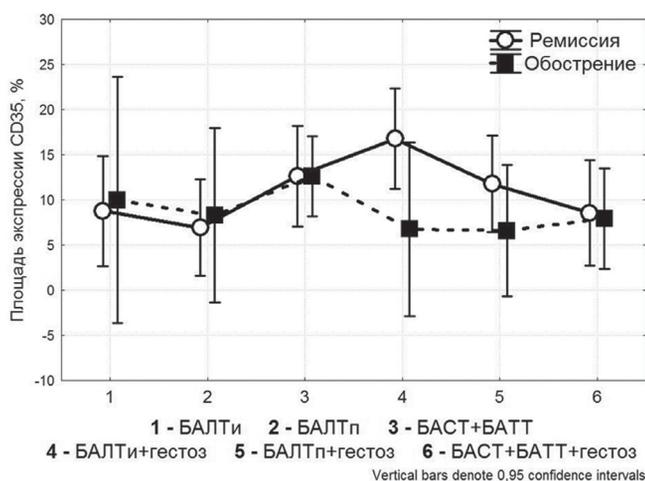
Экспрессия CD35<sup>+</sup> в ткани плацент в подгруппах при наличии или отсутствии гестоза

Table 3

Expression of CD35<sup>+</sup> in the placenta tissue of women with asthma in the presence or absence of preeclampsia

Варианты	Группа		n	Среднее значение (M ± m)	Достоверность различий (p)
Площадь экспрессии CD35 <sup>+</sup> , %	БАЛТи	1	12	8,97 ± 2,66	<b>F = 2,44, p = 0,02869</b> <b>2-4 p = 0,030</b> <b>3-7 p = 0,0034</b> <b>4-6 p = 0,047</b> <b>4-7 p = 0,0024</b>
	БАЛТп	2	17	7,24 ± 2,24	
	БАСТ + БАТТ	3	31	12,63 ± 1,66	
	БАЛТи + гестоз	4	16	14,26 ± 2,30	
	БАЛТп + гестоз	5	20	9,97 ± 2,06	
	БАСТ + БАТТ + гестоз	6	23	8,24 ± 1,92	
	Контроль	7	15	4,00 ± 2,38	
Оптическая плотность CD35 <sup>+</sup> , отн. ед.	БАЛТи	1	12	0,16 ± 0,15	<b>F = 1,25, p = 0,28</b> <b>4-6 p = 0,04</b> <b>6-7 p = 0,034</b>
	БАЛТп	2	17	0,19 ± 0,12	
	БАСТ + БАТТ	3	31	0,28 ± 0,09	
	БАЛТи + гестоз	4	16	0,16 ± 0,13	
	БАЛТп + гестоз	5	20	0,19 ± 0,11	
	БАСТ + БАТТ + гестоз	6	23	0,49 ± 0,11	
	Контроль	7	15	0,13 ± 0,13	

*Примечание:* БАЛТи — бронхиальная астма с легким интермиттирующим течением; БАЛТп — бронхиальная астма с легким персистирующим течением; БАСТ — бронхиальная астма со среднетяжелым персистирующим течением; БАТТ — бронхиальная астма с тяжелым персистирующим течением



**Рис. 1.** Показатели экспрессии CD35<sup>+</sup> в ткани плаценты в зависимости от характера течения бронхиальной астмы в III триместре беременности

**Fig. 1.** Expression of CD35<sup>+</sup> in the placental tissue depending on asthma control the 3 trimester of pregnancy

Таблица 4

Экспрессия CD57 в ткани плацент женщин с бронхиальной астмой различной степени тяжести

Table 4

Expression of CD57 in the placenta tissue of women with asthma

Варианты	Группа	n	Среднее значение ( $M \pm m$ )	Достоверность различий ( $p$ )	
Площадь экспрессии CD57, %	БАЛТи	1	28	8,36 ± 1,3	<b><math>F = 3,35, p = 0,011</math></b> <b>1-4 <math>p = 0,04</math></b> <b>1-5 <math>p = 0,03</math></b> <b>2-5 <math>p = 0,01</math></b> <b>3-4 <math>p = 0,02</math></b> <b>3-5 <math>p = 0,03</math></b> <b>4-5 <math>p = 0,0004</math></b>
	БАЛТп	2	37	8,76 ± 1,2	
	БАСТ	3	41	8,04 ± 1,1	
	БАТТ	4	13	13,08 ± 1,95	
	Контроль	5	15	3,42 ± 1,8	
Оптическая плотность CD57, отн. ед.	БАЛТи	1	28	0,20 ± 0,02	<b><math>F = 3,45, p = 0,0098</math></b> <b>1-5 <math>p = 0,01</math></b> <b>2-5 <math>p = 0,0007</math></b> <b>3-5 <math>p = 0,0007</math></b> <b>4-5 <math>p = 0,02</math></b>
	БАЛТп	2	37	0,22 ± 0,02	
	БАСТ	3	41	0,22 ± 0,01	
	БАТТ	4	13	0,21 ± 0,03	
	Контроль	5	15	0,12 ± 0,02	

**Примечание:** БАЛТи — бронхиальная астма с легким интермиттирующим течением; БАЛТп — бронхиальная астма с легким персистирующим течением; БАСТ — бронхиальная астма со среднетяжелым персистирующим течением; БАТТ — бронхиальная астма с тяжелым персистирующим течением

Интересно отметить, что при контролируемом течении БА в III триместре у пациенток с гестозом имелась отчетливая тенденция к увеличению площади экспрессии CD35<sup>+</sup>, в то время как оптическая плотность экспрессии была достоверно меньше (рис. 1). По данным литературы, CD35<sup>+</sup>-клетки локализуются преимущественно в строме стволовых и промежуточных ворсин, а также в просветах стромальных каналов [20], что соответствует полученным нами данным.

Показатели экспрессии CD35<sup>+</sup> в плаценте в зависимости от характера проводимой терапии БА достоверно не различались — среди

пациенток, не использовавших ИГКС, площадь экспрессии CD35<sup>+</sup> составила 11,6 ± 1,67 %, а оптическая плотность — 0,16 ± 0,09 отн. ед., среди получавших терапию ИГКС площадь экспрессии была 9,93 ± 1,05 %, а оптическая плотность — 0,30 ± 0,05 отн. ед.

Иммуногистохимический анализ плаценты на способность к экспрессии маркера НК-клеток CD57 показал, что у пациенток с БА площадь экспрессии и оптическая плотность достоверно выше, чем в контрольной группе, при этом максимальная площадь экспрессии маркера оказалась в плаценте пациенток с БАТТ (табл. 4).

Таблица 5

Экспрессия CD57 в ткани плацент в подгруппах при наличии или отсутствии гестоза

Table 5

Expression of CD57 in the placenta tissue of women with asthma in the presence or absence of preeclampsia

Варианты	Группа	n	Среднее значение ( $M \pm m$ )	Достоверность различий ( $p$ )	
Площадь экспрессии CD57, %	БАЛТи	1	12	8,86 ± 2,01	<b><math>F = 1,9268, p = 0,08134</math></b> <b>1-7 <math>p = 0,049</math></b> <b>2-7 <math>p = 0,006</math></b> <b>3-7 <math>p = 0,032</math></b> <b>6-7 <math>p = 0,003</math></b>
	БАЛТп	2	17	10,49 ± 1,73	
	БАСТ + БАТТ	3	31	8,26 ± 1,28	
	БАЛТи + гестоз	4	16	7,99 ± 1,78	
	БАЛТп + гестоз	5	20	7,28 ± 1,59	
	БАСТ + БАТТ + гестоз	6	23	10,59 ± 1,48	
	Контроль	7	15	3,42 ± 1,84	
Оптическая плотность CD57, отн. ед.	БАЛТи	1	12	0,17 ± 0,03	<b><math>F = 3,09, p = 0,00727</math></b> <b>1-2 <math>p = 0,03</math></b> <b>2-7 <math>p = 0,0003</math></b> <b>3-7 <math>p = 0,003</math></b> <b>4-7 <math>p = 0,003</math></b> <b>5-7 <math>p = 0,012</math></b> <b>6-7 <math>p = 0,0012</math></b>
	БАЛТп	2	17	0,25 ± 0,02	
	БАСТ + БАТТ	3	31	0,21 ± 0,02	
	БАЛТи + гестоз	4	16	0,22 ± 0,02	
	БАЛТп + гестоз	5	20	0,20 ± 0,02	
	БАСТ + БАТТ + гестоз	6	23	0,22 ± 0,02	
	Контроль	7	15	0,12 ± 0,02	

*Примечание:* БАЛТи — бронхиальная астма с легким интермиттирующим течением; БАЛТп — бронхиальная астма с легким персистирующим течением; БАСТ — бронхиальная астма со среднетяжелым персистирующим течением; БАТТ — бронхиальная астма с тяжелым персистирующим течением

В основной группе показатель площади экспрессии оказался максимальным при БАЛТп, а в группе сравнения — при БАСТ + БАТТ. Оптическая плотность CD57 была также достоверно выше в плацентах пациенток с БА, чем в контрольной группе. Достоверных различий среднего значения оптической плотности CD57 в основной группе и группе сравнения обнаружено не было, однако в основной группе она была выше при БАЛТп, чем БАЛТи (табл. 5).

Нами была обнаружена положительная корреляционная связь между площадью экспрессии CD57 и отложением ПИК (С3-фракции комплемента):  $r = 0,32$  ( $p < 0,05$ ), IL-4 ( $r = 0,29$ ,  $p < 0,05$ ), IL-6 ( $r = 0,23$ ,  $p < 0,05$ ), IL-10 ( $r = 0,27$ ,  $p < 0,05$ ), наличием воспалительных изменений ( $r = 0,23$ ,  $p < 0,05$ ) в плаценте пациенток с БА, а также отрицательная корреляционная связь площади экспрессии CD57 в плаценте с оценкой новорожденных по шкале Апгар на 5-й минуте жизни ( $r = -0,22$ ,  $p < 0,05$ ).

Площадь экспрессии CD57 при обострении или неполном контроле БА в III триместре была выше, чем при ремиссии заболевания на этом сроке, и составила  $11,81 \pm 2,34$  против  $8,62 \pm 0,82$  % (различия не достоверны), однако по степени тяжести БА различий выявлено не было. Оптическая плотность экспрессии

CD57 при наличии обострения или неполного контроля БА была выше, чем при ремиссии заболевания, и составила  $0,22 \pm 0,009$  против  $0,16 \pm 0,026$  отн. ед. ( $p = 0,083$ ). В плаценте больных БАЛТп основной группы при контролируемом течении БА в III триместре оптическая плотность экспрессии CD57 была значительно выше, чем при БАЛТи ( $0,24 \pm 0,02$  против  $0,17 \pm 0,02$  отн. ед.,  $p = 0,03$ ). В других подгруппах различий выявлено не было.

Показатели экспрессии CD57 в плаценте в зависимости от характера проводимой терапии БА достоверно не различались: среди пациенток, не использовавших ИГКС, площадь экспрессии CD57 составила  $9,01 \pm 1,27$  %, а оптическая плотность —  $0,20 \pm 0,01$  отн. ед., среди получавших терапию ИГКС площадь экспрессии составила  $8,83 \pm 0,8$  %, а оптическая плотность —  $0,21 \pm 0,009$  отн. ед.

## Обсуждение

Известно, что ДК играют важную роль в поддержании иммунного баланса между тканями матери и плода и способны как индуцировать воспалительный ответ, так и проявлять иммунологическую толерантность, необходимую для пролонгирования беременности [14–16]. В доступной литературе нам не удалось найти

сведений о роли ДК в плаценте больных БА, но, суммируя полученные в ходе нашего исследования результаты, можно предположить, что в условиях аллергической сенсибилизации у больных персистирующими формами БА при неосложненной гестозом беременности увеличение содержания CD35-позитивных клеток происходит для обеспечения иммунной толерантности плаценты с целью защиты плода от поступающих антигенов через материнский кровоток. В литературе показано снижение активности ДК периферического кровотока при задержке внутриутробного развития (ЗВУР), что предполагает их связь с процессами ангиогенеза плаценты [13]. Отмеченное в нашем исследовании снижение площади экспрессии CD35<sup>+</sup> с нарастанием тяжести БА при гестозе, по-видимому, свидетельствует об истощении механизмов иммунного ответа при сочетании трудно контролируемого течения БА и гестоза.

В последние сроки беременности НК-клетки выполняют ряд функций по защите плода от инфекции путем взаимодействия с макрофагами и выделения цитокинов [14]. Обнаруженная нами положительная корреляционная связь между площадью экспрессии CD57 и отложением ПИК, IL-4, IL-6, IL-10, а также наличием воспалительных изменений в плаценте больных БА свидетельствует, по-видимому, о цитотоксической реакции данной субпопуляции клеток в условиях аллергического фенотипа матери. В литературе имеются данные об увеличении количества НК-клеток с ухудшением показателей внешнего дыхания [21], а также об их мобилизации в легочную ткань при обострении инфекционно-зависимой БА [18]. Следовательно, можно высказать предположение о возникновении у НК-клеток при наличии не полностью контролируемой и персистирующей БА цитотоксической роли, что приводит к вышеперечисленным морфологическим и иммунным изменениям плаценты, негативно влияющим на развивающийся плод и на состояние новорожденного. Подтверждением этому может служить выявленная нами отрицательная корреляционная связь между площадью экспрессии CD57 и оценкой новорожденного по шкале Апгар на 5-й минуте жизни.

Таким образом, результаты исследования позволяют на морфологическом уровне еще раз подтвердить, что наиболее значимым фактором, влияющим на вероятность развития акушерских и, главным образом, перинаталь-

ных осложнений, является отсутствие полноценного контроля БА в период беременности.

## Литература

1. Купаев В.И., Косарев В.В., Филиппова Т.Ю. Особенности контроля бронхиальной астмы у женщин в период беременности. – Самара: Литфонд, 2004. [Kupaev VI, Kosarev VV, Filippova TYu. Osobennosti kontrolya bronkhial'noy astmy u zhenshchin v period beremennosti. Samara: Litfond, 2004. (In Russ.)]
2. Пальчик Е.А. Сидоренко И.А. Течение беременности при хронических неспецифических заболеваниях легких // Вестн. Рос. ассоц. акушеров-гинекологов. – 1998. – № 1. – С. 46–49. [Pal'chik EA, Sidorenko IA. Tечение beremennosti pri khronicheskikh nespetsificheskikh zabolevaniyakh legkikh. Vestn Ros assots akusherov-ginekologov. 1998;(1):46-9. (In Russ.)]
3. Утешев Д.Б., Крылов И.А., Буюклинская О.В. Бронхиальная астма и беременность: тактика ведения // Проблемы женского здоровья. – 2007. – Вып. 2, № 4. – С. 34–37. [Uteshev DB, Krylov IA, Buyuklinskaya OV. Bronkhial'naya astma i beremennost': taktika vedeniya. Problemy zhenskogo zdorov'ya. 2007;2(4):34-7. (In Russ.)]
4. Лаврова О.В. Клинико-диагностические и организационные подходы к ведению беременных женщин, страдающих бронхиальной астмой, как основа первичной профилактики аллергических заболеваний их детей: дис. ... д-ра мед. наук. – СПб., 2009. [Lavrova OV. Kliniko-diagnosticheskie i organizatsionnye podkhody k vedeniyu beremennykh zhenshchin, stradayushchikh bronkhial'noy astmoy, kak osnova pervichnoy profilaktiki allergicheskikh zabolevaniy ikh detey. [dissertation] Saint Petersburg; 2009. (In Russ.)]
5. Дымарская Ю.П., Лаврова О.В. Особенности течения и исходов беременности у пациенток, страдающих бронхиальной астмой // Практическая медицина. – 2015. – Вып. 1, № 86. – С. 50–55. [Dymarskaya YP, Lavrova OV. Features of pregnancy course and outcomes in patients with bronchial asthma. Prakticheskaya meditsina. 2015;1(86):50-5. (In Russ.)]
6. Лаврова О.В., Дымарская Ю.П. Бронхиальная астма и беременность // Практическая пульмонология. – 2015. – № 4. – С. 2–9. [Lavrova OV, Dymarskaya YP. Bronkhial'naya astma i beremennost'. Prakticheskaya pul'monologiya. 2015;4:2-9. (In Russ.)]
7. Dombrowski MP. Outcomes of pregnancy in asthmatic women. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2006;26(1):81-92.
8. Wang G, et al. The risk of maternal and placental complications in pregnant women with asthma: a systematic review and meta-analysis. *J Matern Fetal Neonatal*

- Med.* 2014;27(9):934-42. doi: 10.3109/14767058.2013.847080.
9. Шугинин И.О., и др. Ведение родов у беременных с бронхиальной астмой // Практическая медицина. – 2003. – № 3. – С. 27–28 [Shuginin IO, et al. Vedenie rodov u beremennykh s bronkhial'noy astмой. *Prakticheskaya meditsina.* 2003;(3):27-8. (In Russ.)]
  10. Young BC, Levine RJ, Karumanchi SA. Pathogenesis of preeclampsia. *Ann Rev Pathol.* 2014;5:173-192. doi: 10.1146/annurev-pathol-121808-102149.
  11. Murphy VE, et al. Severe asthma exacerbations during pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2005; 106(5,Suppl.1):1046-54.
  12. Wu L, Liu Y-J. Development of dendritic cell lineages. *Immunity.* 2007;26:741-750. doi: 10.1016/j.immuni.2007.06.006.
  13. Cappelletti M, Giannelli S, Martinelli A. Lack of activation of peripheral blood dendritic cells in human pregnancies complicated by intrauterine growth restriction. *Placenta.* 2013;34(1):35-41. doi: 10.1016/j.placenta.2012.10.016.
  14. Айламазян Э.К., Полякова В.О., Кветной И.М. Функциональная морфология плаценты человека в норме и при патологии (нейроиммуноэндокринологические аспекты). – СПб.: Изд-во Н-Л, 2012. [Aylamazyan EK, Polyakova VO, Kvetnoy IM. Funktsional'naya morfologiya platsenty cheloveka v norme i pri patologii (neyroimmunoendokrinologicheskie aspekty). Saint Petersburg: Izd-vo N-L; 2012. (In Russ.)]
  15. Hrusch CL, Tjota MY, Sperling AI. The role of dendritic cells and monocytes in the maintenance and loss of respiratory tolerance. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2015;15(1):494. doi: 10.1007/s11882-014-0494-9.
  16. Vroman H, van den Blink B, Kool M. Mode of dendritic cell activation: The decisive hand in Th2/Th17 cell differentiation. Implications in asthma severity? *Immunobiology.* 2014; pii: S0171-2985.14.00177-6. doi: 10.1016/j.imbio.2014.09.016.
  17. Hanna J, Mandelboim O. When killers become helpers. *Trends Immunol.* 2007;28(5):201-6.
  18. Koh YI, et al. The role of natural killer t cells in the pathogenesis of acute exacerbation of human asthma. *Int Arch Allergy Immunol.* 2012;158(2):131-41. doi: 10.1159/000330908.
  19. Awad A, et al. Natural killer cells induce eosinophil activation and apoptosis. *PLoSOne.* 2014;9(4):e94492. doi: 10.1371/journal.pone.0094492.
  20. Лапина Е.А. Сигнальные молекулы как маркеры зрелости и старения плаценты у женщин разного возраста: дис. ... канд. биол. наук. – СПб., 2004. [Lapina EA. Signal'nye molekuly kak markery zrelosti i stareniya platsenty u zhenshchin raznogo vozrasta. [dissertation] Saint Petersburg; 2004. (In Russ.)]
  21. Shim JU, Koh YI. Increased Th2-like invariant natural killer t cells in peripheral blood from patients with asthma. *Allergy Asthma Immunol Res.* 2014;6(5):444-8. doi: 10.4168/air.2014.6.5.444.

#### ■ Адреса авторов для переписки (*Information about the authors*)

Юлия Романовна Дымарская — канд. мед. наук, ассистент кафедры акушерства и гинекологии. ФГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург. **E-mail:** julia\_dym@mail.ru.

Людмила Борисовна Зубжицкая — д-р биол. наук, заместитель директора по лечебной работе. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург. **E-mail:** lzubzhitskaya@mail.ru.

Ольга Волдемаровна Лаврова — д-р мед. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории наследственных механизмов заболеваний легких НИИ пульмонологии. ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России, Санкт-Петербург. **E-mail:** loverova@bk.ru.

Yulia R. Dymarskaya — assistant professor of the Department of obstetrics and gynecology. Nord-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** julia\_dym@mail.ru.

Lyudmila B. Zubzhitskaya — senior researcher of the department of pathomorphology. FSBSI “The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott”, Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** lzubzhitskaya@mail.ru.

Olga V. Lavrova — leading researcher of the Laboratory of genetic processes of lung diseases, Research Institute of Pulmonology. FSBEI HE “Academician I.P. Pavlov First St Petersburg State Medical University” of the Ministry of Healthcare of Russia, Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** loverova@bk.ru.

**■ Адреса авторов для переписки** (*Information about the authors*)

*Елена Андреевна Шаповалова* — канд. мед. наук, старший научный сотрудник отделения патологии беременности № 1. ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург.  
**E-mail:** e.shapovalova@mail.ru.

*Дмитрий Сергеевич Судаков* — канд. мед. наук, ассистент кафедры акушерства и гинекологии. ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург. **E-mail:** suddakovv@yandex.ru.

*Elena A. Shapovalova* — senior researcher at the Department of Pathology of pregnancy. FSBSI “The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott”, Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** e.shapovalova@mail.ru.

*Dmitriy S. Sudakov* — assistant professor of the Department of obstetrics and gynecology. Nord-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia. **E-mail:** suddakovv@yandex.ru.