

© Н. Ю. Сотникова,
Ю. С. Анциферова,
Н. В. Крошкина, Д. Н. Воронин

РОЛЬ КЛЕТОК ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА В ОБЕСПЕЧЕНИИ УСПЕХА БЕРЕМЕННОСТИ НА РАННИХ СРОКАХ ГЕСТАЦИИ

ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В. Н. Городкова» МЗ РФ,
г. Иваново

УДК: 618.2:612.017

■ **Врожденный иммунитет играет ведущую роль в формировании и поддержании иммунологического равновесия в системе мать-плацента. В децидуальной оболочке плаценты в ранние сроки беременности преобладают ЕК и макрофаги. Взаимодействие клеток врожденного иммунитета и инвазирующего цитотрофобласта является необходимым фактором, определяющим регуляцию материнского иммунного ответа и развитие тканей плаценты в ранние сроки гестации.**

■ **Ключевые слова:** беременность; врожденный иммунитет; трофобласт; инвазия.

«Иммунологический парадокс беременности», до сих пор не получивший окончательного объяснения, заключается в феномене неоторжения генетически «чужеродного» плода во время беременности, несмотря на то, что клетки плодового происхождения и плодовой части плаценты — трофобласта — находятся в непосредственном контакте с клетками материнской иммунной системы [39]. Принято считать, что в процессе беременности развивается толерантность материнской иммунной системы в отношении плода. За последние 50 лет, прошедшие со времен П. Медавара, предложившего первую концепцию «фетального аллотрансплантата», было выдвинуто большое количество гипотез о механизмах этой толерантности. Попытки создать ясную схему событий часто приводили к выдвиганию упрощенных парадигм, наиболее распространенной среди которых является теория Т. Вегмана (1993), которая постулировала, что беременность является Th2 феноменом, т. е. материнский Th1-тип иммунного ответа, определяющий запуск аллоспецифического цитотоксического ответа, во время беременности ингибирован для предотвращения отторжения плода. При этом Th2-клетки, которые участвуют в развитии гуморального типа иммунного ответа, активированы, что предотвращает полную иммуносупрессию материнского иммунного ответа [39]. Есть данные, что цитокиновый ответ по Th1-типу подавлен в результате ингибирования активности NF-κB при беременности [17]. Однако недавние исследования показали, что успешное развитие ранней беременности требует усиления продукции цитокинов, традиционно ассоциирующихся с Th1-типом иммунного ответа. При этом активность реакций материнской иммунной системы постоянно меняется в течение гестационного процесса в соответствии с изменяющимися потребностями развивающегося плода [17, 39].

В последние 20 лет была выдвинута и получила широкое распространение гипотеза о важной роли клеток врожденного иммунитета в обеспечении развития и защиты фето-плацентарного комплекса [15]. В течение беременности плодовой цитотрофобласт, инвазирующий децидуальную оболочку плаценты, находится в непосредственном контакте с материнскими эффекторными иммунными клетками, большинство из которых являются клетками врожденного иммунитета. Установлено, что в первом триместре гестации до 30–40% всех децидуальных клеток составляют клетки материнской иммунной системы, которые распределяются, по данным разных авторов, следующим образом: децидуальные ЕК (дЕК) — 70%, макрофаги — 30%, Т-лимфоциты — до 20%, дендритные клетки — 2% [30, 35]. Следует также отметить, что если количество ЕК постепенно снижается с увеличением срока

гестации, то уровень макрофагов остается высоким на протяжении всей беременности [2, 15]. Эти данные позволили предположить, что врожденный иммунитет не является индифферентным в отношении плода и может служить не только для защиты от патогенов, но и в обеспечении таких условий, при которых вынашивание беременности становится возможным.

Децидуальные ЕК

Естественные киллеры (ЕК), являющиеся важным компонентом врожденного иммунитета, происходят из CD34+ гематопозитических клеток-предшественников [15]. ЕК представляют собой высокоспециализированную популяцию больших гранулярных лимфоцитов, обладающих цитотоксической активностью и способностью к продукции различных цитокинов и хемокинов в ответ на стимуляцию со стороны клеток-мишеней или провоспалительных цитокинов [14, 22]. Активация ЕК определяется балансом сигналов, поступающих в клетку через систему мембранных рецепторов, в которую входят как активирующие, так и ингибирующие ЕК рецепторы. Причем в большинстве случаев активность рецепторов, проводящих ингибирующие сигналы, преобладает над действием активирующих ЕК рецепторов [14].

В периферической крови циркулирует преимущественно субпопуляция ЕК с фенотипом CD56^{dim}CD16+, которая составляет до 90% всех периферических ЕК [15]. Установлено, что эта субпопуляция обладает выраженной цитотоксической активностью [6]. ЕК, инфильтрирующие децидуальную оболочку плаценты (дЕК) в ранние сроки гестации, в отличие от периферических ЕК, имеют фенотип CD56^{bright}CD16-, обладают уникальным транскрипционным профилем и функциями [31]. Хотя дЕК экспрессируют некоторые активирующие рецепторы, такие как NKp30, NKp44, NKp46, CD244, они, по мнению ряда авторов, в меньшей степени способны к развитию цитотоксических реакций. Показано, например, что в дЕК не происходит поляризации цитолитических гранул в месте контакта ЕК с клетками-мишенями, что позволило предположить снижение цитотоксической активности дЕК [31]. В то же время дЕК способны к продукции широкого спектра цитокинов и факторов роста, важнейшими из которых являются IFN γ , TNF β , интерлейкин (IL)-10, IL-12, TGF β , GM-CSF и др. [15]. Несмотря на интенсивное изучение дЕК в течение последних двух десятилетий, большинство имеющихся на сегодняшний день результатов были получены либо на мышиной модели, либо при исследовании клеточных линий. До настоя-

щего времени в литературе крайне мало данных, описывающих характер изменения функционального состояния дЕК у человека, в том числе при спонтанном прерывании беременности.

Нами была проведена оценка динамики изменения дЕК, экспрессирующих активирующие и ингибирующие рецепторы при физиологическом течении беременности и при ее спонтанном прерывании на ранних сроках. Было установлено, что в ткани ранней плаценты, независимо от характера течения беременности, происходит резкое увеличение пула CD56+ ЕК по сравнению с показателями эндометрия во 2-ю фазу цикла, что приводит к доминированию этой популяции в лейкоцитарном инфильтрате децидуальной оболочки плаценты. Сравнительный анализ экспрессии лектиновых рецепторов С-типа и синтеза функциональных молекул эндометриальными и децидуальными ЕК показал, что в ткани ранней плаценты резко увеличивается по сравнению с аналогичными показателями в эндометрии небеременных женщин относительное содержание CD56+ ЕК, экспрессирующих на своей поверхности как активирующие рецепторы NKG2D и CD161, так и ингибирующие рецепторы NKG2A. Однако если при неосложненной беременности в пуле дЕК сохранялось характерное для эндометрия преобладание клеток с ингибирующими рецепторами (CD56+NKG2A+) над относительным содержанием ЕК с активирующими рецепторами (NKG2D), то при самопроизвольном выкидыше картина менялась [1]. В этом случае мы отмечали инверсию соотношения CD56+-лимфоцитов с рецепторами различного типа в сторону доминирования клеток, экспрессирующих активирующие рецепторы NKG2D, что сопровождалось достоверным снижением уровня клеток с фенотипом CD56+NKG2A+. Полученные результаты предполагают усиление цитотоксической активности CD56+ ЕК при беременности, закончившейся самопроизвольным выкидышем в ранние сроки гестации. Это предположение подтверждается высоким уровнем децидуальных CD56+ ЕК, внутриклеточно продуцирующих IFN γ и гранзим В, в плацентах женщин с досрочным прерыванием беременности. Следует отметить, что в децидуальной оболочке плаценты женщин этой клинической группы усиливалась и рецепция IFN γ по сравнению с таковой при неосложненной беременности. По-видимому, снижение уровня клеток, экспрессирующих ингибирующие рецепторы NKG2A, в значительной степени определяет нарушение функций дЕК в ранние сроки гестации. Известно, что одним из лигандов NKG2A являются неклассические молекулы HLA I класса — HLA-E, которые экспрессируются на клет-

ках трофобласта [36]. Было установлено, что ингибирование NKG2A-рецепторов специфическими лигандами приводит к практически полному подавлению проведения активирующего сигнала в ЕК [10]. Мы предполагаем, что низкий уровень экспрессии ингибирующих рецепторов на поверхности дЕК определяет нарушение взаимодействия дЕК с клетками трофобласта и развитие со стороны дЕК нежелательной цитотоксической активности в отношении клеток плодовой части плаценты. Повышенный уровень экспрессии цитолитических молекул в пуле дЕК подтверждает данные об усилении активации этих клеток при самопроизвольном выкидыше в ранние сроки гестации.

Децидуальные макрофаги

Наличие большого количества макрофагов в децидуальной оболочке плаценты на протяжении всего гестационного периода позволяет предположить, что маточные макрофаги вовлечены в широкий спектр гестационных процессов, включая имплантацию, развитие плаценты и созревание шейки матки. Важнейшим аспектом проблемы имплантации является создание благоприятного для плода микроокружения, способствующего клеточному росту и подавлению потенциально опасных воспалительных реакций [37]. Данные последних лет свидетельствуют о том, что для успеха имплантации бластоцисты требуется усиленная продукция провоспалительных цитокинов и хемокинов, а уменьшение воспалительной реакции связано с дефектами имплантации [28]. Учитывая эти данные, можно предположить, что клетки врожденного иммунитета, особенно макрофаги, играют важную роль в регуляции этих процессов.

Благодаря своей высокой пластичности децидуальные макрофаги на ранних сроках беременности могут выполнять различные функции, включая защиту от внешних патогенов, удаление апоптирующих клеток и ангиогенез [21, 38]. При инфицировании трофобласта патогенами и распознавании их паттерн распознающими рецепторами децидуальных макрофагов происходит изменение фенотипа и функциональной активности макрофагов в сторону провоспалительного ответа, что позволяет осуществлять борьбу с инфекционными агентами. Кроме того, CD14+CD69+-клетки, представляющие макрофаги децидуальной оболочки человека, могут функционировать как резервный клеточный пул, обеспечивающий накопление функционально зрелых дендритных клеток (DCs), которые способны быстро отвечать на изменяющееся цитокиновое микроокружение [21].

Наши данные подтверждают, что с наступлением беременности изменялось функциональное состояние децидуальных макрофагов по сравнению с характеристиками эндометриальных макрофагов. При обследовании женщин в сроке 8–12 недель нами было установлено, что в децидуальной оболочке плаценты на ранних сроках беременности по сравнению с показателями небеременных женщин существенно возросло количество макрофагов, продуцирующих IFN γ и IL-1 β , но при этом снижалось количество макрофагов, секретирующих IL-6. Увеличение продукции провоспалительных цитокинов IFN γ и IL-1 β макрофагами хорошо согласуется с литературными данными, приведенными выше о необходимости создания провоспалительного микроокружения для успешной имплантации бластоцисты. IL-6 также отводится важная роль в регуляции событий, ассоциированных с ранней беременностью. Так, известно, что семейство IL-6 цитокинов, включающее несколько важнейших проимплантационных факторов (LIF, IL-11, онкостатин М), через различные сигнальные пути, основным из которых является STAT3-путь, создают условия для успешной имплантации эмбриона [19]. Продукция IL-6 в эндометрии находится под контролем половых стероидных гормонов, в частности эстрогенов, уровень которых снижается с наступлением беременности [19]. Можно предположить, что наблюдавшееся снижение внутриклеточной продукции IL-6 макрофагами в ранние сроки неосложненной беременности обусловлено изменением гормонального фона. При раннем самопроизвольном выкидыше в децидуальной оболочке плаценты по сравнению с показателями при неосложненной беременности резко возрос уровень макрофагов, внутриклеточно продуцирующих IFN γ , IL-1 β и IL-6. При этом количество IFN γ - и IL-1 β -макрофагов значительно превышало таковое в эндометрии небеременных женщин, а уровень IL-6+ децидуальных макрофагов не достигал значений, характерных для эндометрия здоровых небеременных женщин. Чрезмерное усиление локальной продукции провоспалительных цитокинов, по-видимому, свидетельствует о неадекватной стимуляции реакций врожденного иммунитета, что ведет к досрочному прерыванию беременности.

Функциональное созревание макрофагов недавно было пересмотрено аналогично поляризации эффекторных Т-клеток в Th1/Th2-лимфоциты. Это привело к подразделению эффекторного фенотипа макрофагов на M1- или M2-типы [21]. Макрофаги, активированные провоспалительными цитокинами и липополисахаридом (ЛПС), относятся к M1-типу. M1-клетки секретируют TNF α ,

IL-12 и участвуют в развитии воспалительной реакции. M2-поляризация индуцируется цитокинами Th2-типа (IL-4, IL-10 и IL-13) и глюкокортикоидами [33, 34]. Для M2-макрофагов характерно усиление экспрессии рецепторов врожденного иммунитета, включая рецепторы-мусорщики и маннозный рецептор макрофагов, а также апрегуляция аргиназной активности, что ведет к снижению синтеза оксида азота. Кроме того, M2-макрофаги в большей степени секретируют антагонист IL-1 рецептора и в меньшей степени продуцируют IL-12. Эти свойства позволяют M2-макрофагам участвовать в восстановлении тканевых повреждений и угнетении воспалительной реакции [34].

Существует гипотеза, что при беременности происходит сдвиг дифференцировки децидуальных макрофагов в сторону M2-пула, что благоприятно для развивающейся беременности [21]. Для проверки этой гипотезы мы провели оценку содержания M1- и M2-макрофагов в децидуальной оболочке плацент при неосложненном течении беременности и при раннем выкидыше. По нашим данным, при ранней физиологической беременности в децидуальной оболочке плаценты наблюдалось достоверное снижение по сравнению с эндометрием количества макрофагов, внутриклеточно продуцирующих IL-12. При этом одновременно существенно возросло количество макрофагов, внутриклеточно продуцирующих TGFβ1, а уровень IL-10+ макрофагов в децидуальной оболочке плаценты практически не менялся. При раннем самопроизвольном выкидыше наблюдалось резкое увеличение пула IL-12+ децидуальных макрофагов и снижение уровня IL-10 и TGFβ1 продуцирующих макрофагов. Таким образом, полученные результаты позволяют говорить о доминировании активности M2 макрофагов в децидуальной оболочке плаценты в ранние сроки неосложненной беременности и сдвиге баланса дифференцировки макрофагов в сторону M1 пула при самопроизвольном выкидыше. Сдвиг процессов дифференцировки децидуальных макрофагов в сторону M2 пула, по-видимому, является важным компонентом реакций врожденного иммунитета, определяющим поддержание иммунологического равновесия в системе мать–плацента–плод в норме, тогда как высокий уровень M1-макрофагов может способствовать нарушению баланса активности материнского иммунного ответа и вести к развитию потенциально опасных для плода реакций. В то же время усиление продукции IFNγ и IL-1β децидуальными макрофагами при неосложненной беременности свидетельствует о неполной поляризации макрофагов или ее обратимости.

В связи с этим нельзя однозначно утверждать, что беременность — это феномен исключительно M2-поляризации децидуальных макрофагов.

Интерфаза мать–плод: трофобласт индуцирует толерантность материнской иммунной системы?

После имплантации распознавание плода клетками материнской иммунной системы происходит в интерфазе мать–плацента–плод благодаря непосредственной инвазии клеток вневорсинчатого трофобласта в децидуализированный эндометрий и слой миометрия [15]. Показано, что успех плацентации определяется особенностями взаимодействия между вневорсинчатым трофобластом и материнскими клетками врожденного иммунитета [20]. Это взаимодействие приводит к значительным изменениям как клеток иммунной системы матери, так и плодовых клеток, инфилтрирующих материнскую часть плаценты.

Ранее существовала гипотеза, что в норме дЭК не способны активироваться в ответ на стимуляцию клетками инвазирующего цитотрофобласта, что является одним из важных иммунных механизмов, обеспечивающих толерантность материнской иммунной системы в отношении семиаллогенного плода [10, 18]. Для проверки этого предположения мы проводили совместное инкубирование клеток, полученных из ворсинчатого трофобласта с использованием стандартного ферментативного метода, в присутствии обогащенной популяции аутологичных дЭК. После суточного культивирования выделяли чистую популяцию CD56+ лимфоцитов методом магнитной сепарации и оценивали уровень экспрессии в них мРНК IFNγ и гранзима В методом RT-PCR. Нами было установлено, что при физиологической беременности совместное культивирование дЭК и трофобласта приводило к значительному усилению экспрессии мРНК IFNγ и гранзима В в пуле дЭК, тогда как при спонтанном выкидыше в этом случае изменения со стороны дЭК были минимальны. Выявленное нами отсутствие ответа дЭК на стимуляцию аутологичным цитотрофобластом при беременности, закончившейся самопроизвольным выкидышем, с одной стороны, может быть связано с изначально высоким уровнем активации CD56+-клеток у женщин этой клинической группы, при котором дальнейшая стимуляция уже не может приводить к каким-либо изменениям. С другой стороны, различия в ответе дЭК на клетки трофобласта в норме и при досрочном прерывании беременности могут быть связаны с особенностями самих плодовых клеток, не способных к адекватной стимуляции материнских ЕК, что ведет к нарушению иммунорегуляторных про-

цессов в системе мать-плод, и обуславливает развитие осложнений гестационного процесса, в том числе досрочное прерывание беременности.

Литературные данные свидетельствуют о непосредственном влиянии клеток трофобласта и на пул децидуальных макрофагов. Показано, что взаимодействие децидуальных макрофагов с клетками трофобласта приводит к существенному изменению как фенотипа, так и функциональной активности децидуальных макрофагов. Fest S. и соавторы (2007) предполагают, что клетки трофобласта способны регулировать миграцию, дифференцировку и активацию моноцитов, обеспечивая «обучение» моноцитов [37]. Есть также данные о том, что на ранних стадиях гестации вследствие кооперации с клетками трофобласта продуцируемые макрофагами проангиогенные факторы способствуют ремоделированию сосудов стенки матки, улучшая маточно-плацентарный кровоток [21].

Показано также, что инвазирующий трофобласт после распознавания инфекционных патогенов активно рекрутирует материнские иммунные клетки [12]. При этом трофобласт экспрессирует все типы Toll-подобных рецепторов. Стимуляция клеток трофобласта ведет к усилению продукции провоспалительных хемокинов и цитокинов, обладающих выраженным хемоаттрактантным действием и, следовательно, к привлечению иммунных клеток, особенно моноцитов, в зону имплантации [37].

Таким образом, непосредственный контакт клеток плодового и материнского происхождения во многом определяет развитие реакций материнского врожденного иммунитета во время беременности. В то же время сами клетки врожденного иммунитета матери воздействуют на трофобласт, что, как показывают литературные данные и наши собственные исследования, является необходимым условием нормального развития тканей ранней плаценты.

Интерфаза мать-плод: клетки иммунной системы матери регулируют инвазию трофобласта?

Доказано, что в ранние сроки беременности рекрутированные в плаценту моноциты обеспечивают поддержку клеткам трофобласта, продуцируя факторы, способствующие выживанию и функционированию трофобласта [37].

К таким факторам относятся PPARs (peroxisome proliferator activated receptors), транскрипционные факторы, активируемые специфическими лигандами. PPARs регулируют ряд генов, вовлеченных в дифференцировку и пролиферацию клеток, энергетический гомеостаз, липидный катабо-

лизм и ангиогенез [16]. Семейство PPAR состоит из 3 изоформ: α , β и γ , каждый из которых кодируется отдельным геном: α -22 хромосома, β -6 хромосома и γ -3 хромосома. Изоформы различаются по тканевому распределению и функции. PPAR- α преимущественно экспрессируется в печени и жировой ткани, играет важную роль в липидном гомеостазе благодаря ап-регуляции экспрессии ферментов, участвующих в окислении/катаболизме жиров [16]. PPAR- β (также называемый d и NUC1) участвует в метаболизме липидов, выживании клеток, заживлении ран, имплантации эмбриона и развитии центральной нервной системы [4]. Возможно, он также принимает участие в процессах плацентации. Повышенная экспрессия PPAR- β обнаруживалась у крыс в зоне имплантации и в децидуальных клетках. Отсутствие PPAR- β на модели нокаутных мышей приводило к тяжелым дефектам плацентации и развитию тяжелых геморрагий, что ассоциировалось с высокой частотой гибели эмбрионов и при выживании тяжелым синдромом задержки развития плода [32]. PPAR- γ имеет 4 изоформы и участвует в контроле дифференцировки адипоцитов, адипогенезе и дифференцировке макрофагов [16].

Механизм действия PPARs связан либо с трансактивацией, либо с трансрепрессией генов [16]. При трансактивации ко-активаторы взаимодействуют с ядерными рецепторами по лиганд-зависимому типу и влияют на транскрибируемые гены, при трансрепрессии они супрессируют транскрипцию генов за счет негативного воздействия на сигнально-трандукционные пути, например сигнальный путь NF- κ B. Для воздействия PPAR- γ на транскрипцию генов не всегда требуется прямое связывание с ДНК. Конформационные взаимодействия при связывании лигандов позволяют дальнейшее взаимодействие с ко-активаторами и освобождение ко-репрессоров [16].

С точки зрения иммунологии репродукции наиболее интересным фактором является PPAR γ . На мышинной модели показано, что уже с 10 дня PPAR γ участвует в регуляции активности трофобласта, то есть в тот момент, когда плацента начинает играть ведущую роль в обеспечении кровотока плода. На крысах было установлено, что PPAR γ обнаруживается на 11 день (эквивалентно 9 дню у мышей) и максимальный уровень определяется на 13 день с последующим снижением к 15 дню [9]. Основная роль PPAR- γ в эмбриональном развитии, по-видимому, связана с плацентой. У человека уровень циркулирующих активаторов PPAR- γ (жирные кислоты и липидные метаболиты) при физиологической беременности значительно повышен, что заставляет предполагать участие PPAR- γ в регуляции материн-

ских обменных процессов и функции иммунной системы. Более того, у людей, гетерозиготных по мутации PPAR- γ , наблюдаются частичная липидодистрофия, тяжелая инсулиновая резистентность, гипертензия и стеатогепатит, то есть признаки, характерные для классической картины преэклампсии [8]. У человека PPAR- γ экспрессируется преимущественно в трофобласте и необходим не только для дифференцировки трофобласта, но и для его созревания [11]. В 1 триместре белок PPAR- γ экспрессируется в основном в первичном цитотрофобласте и инвазивном экстравиллезном трофобласте, начиная с 7 недели гестации. Во 2 триместре PPAR- γ определяется в колониях заякоренных ворсин и цитотрофобласте, но не в неинвазивном дифференцированном синцитиотрофобласте [11]. В 3 триместре экспрессия определяется в виллезном синцитиотрофобласте, а также в виллезном и экстравиллезном цитотрофобласте [27]. В то же время, точная роль, которую играет PPAR- γ как в инвазии, так и дифференцировке трофобласта у человека до сих пор остается неясной и противоречивой. Так, показано, что активация PPAR- γ у человека может привести как к усилению, так и угнетению дифференцировки цитотрофобласта [32]. Более того, активация PPAR- γ могла либо индуцировать дифференцировку трофобласта в синцитиотрофобласт, либо приводить к нарушению инвазии цитотрофобласта, при этом антагонисты PPAR- γ , наоборот, усиливали этот процесс [27]. По-видимому, PPAR- γ играет существенную роль в плацентации, хотя некоторыми исследователями было показано, что лиганды PPAR- γ снижают продукцию VEGF, который имеет важное значение в васкуляризации плаценты [26].

По нашим данным, наступление беременности ассоциировалось с достоверным снижением синтеза PPAR γ в плаценте по сравнению с таковым в эндометрии небеременных женщин. Самопроизвольное прерывание беременности на локальном, так же как и на системном уровне, сопровождалось еще большим угнетением синтеза PPAR γ . С одной стороны, эти изменения могут свидетельствовать о нарушении дифференцировки децидуальных макрофагов при досрочном прерывании плацента на ранних сроках. С другой стороны, по-видимому, нарушения синтеза этого фактора в плаценте отражают нарушения регуляции процессов инвазии трофобласта, поскольку PPAR γ является одним из главных регуляторов инвазивной активности трофобласта. Экспериментально была выявлена негативная корреляция между стимуляцией PPAR γ и инвазией цитотрофобласта [25]. При этом стимуляция трофобласта PPAR γ приводила к угнетению его

инвазии в матрикеле по дозозависимому типу, а блокирование PPAR γ , напротив, усиливало инвазию трофобласта [25]. Кроме того, показано, что PPAR γ является ключевым элементом сигнальных путей, опосредующих поляризацию макрофагов в сторону доминирования M2- и угнетения M1-пула клеток [33].

Суммируя наши и литературные данные о характере дифференцировки макрофагов и особенностях синтеза PPAR γ в децидуальной оболочке ранней плаценты, можно предположить, что при физиологической беременности снижение синтеза PPAR γ , с одной стороны, приводит к сохранению необходимого баланса между M1- и M2-макрофагами, обеспечивая одновременно необходимый уровень противoinфекционной защиты и толерантность материнской иммунной системы к плоду. С другой стороны, низкий уровень продукции PPAR γ в децидуальной оболочке плаценты, по-видимому, необходим для ограничения чрезмерной инвазии трофобласта. Однако при самопроизвольном выкидыше отмечается еще большее угнетение синтеза PPAR γ , что может вести к преобладанию активности M1-макрофагов и аномальному подавлению инвазии трофобласта.

Как известно, инвазия клеток из ворсинчатого трофобласта в материнскую часть плаценты является обязательным условием нормального развития тканей плаценты. Конечным пунктом инвазии клеток трофобласта являются материнские спиральные артерии, модификация которых во время беременности ведет к их стойкому расширению, увеличивая приток крови к ворсинам хориона [24, 40]. ЕК-клетки доминируют в децидуальной оболочке плаценты именно в тот момент, когда клетки трофобласта инвазируют ее и обнаруживаются, главным образом, вокруг клеток инвазивного трофобласта [13]. Этот феномен позволил выдвинуть предположение о том, что ДЕК непосредственно участвуют в регуляции инвазии экстравиллезного цитотрофобласта. Однако прямых доказательств этой точки зрения в настоящее время получено недостаточно.

В процессе инвазии трофобласта важная роль принадлежит ферментам семейства матриксных металлопротеиназ (ММР) и их тканевым ингибиторам (ТИМР), участвующим в деградации компонентов экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ), поскольку ЭЦМ является ключевым регуляторным компонентом клеточной физиологии, обеспечивающим среду для миграции клеток, их пролиферации, дифференцировки, заякоривания, в конечном итоге определяя судьбу клетки [7]. ММР и их тканевые ингибиторы, действуя в координации, способны определять такие важные

биологические процессы, связанные с репродукцией, как контроль репродуктивной функции, развитие плода, ангиогенез, заживление и др. Потеря контроля над системой MMP может вести к интенсивной деградациии ЭЦМ и развитию патологических процессов, влияющих на репродукцию [7]. Показано, что ЕК могут иметь непосредственное отношение к синтезу MMPs [18]. Более того, изменение цитокинового профиля ЕК способно усиливать синтез MMPs [23, 29].

Нами была проведена оценка спонтанной экспрессии мРНК ряда MMPs и их тканевых ингибиторов в плацентах женщин с неосложненной беременностью и с самопроизвольным выкидышем. Полученные результаты свидетельствуют, что при выкидыше как в трофобласте, так и в децидуальной оболочке плаценты отмечаются выраженные изменения в экспрессии MMPs и TIMPs. Нами было установлено, что при развитии раннего самопроизвольного выкидыша в ткани трофобласта снижалась экспрессия мРНК MMP-2 и TIMP-2 по сравнению с аналогичными показателями при неосложненной беременности. Данные результаты позволяют говорить о значительном снижении инвазивного потенциала клеток трофобласта при самопроизвольном выкидыше. Это предположение подтверждается и выявленным нами значительным снижением инвазии клеток трофобласта в матрикеле и миграции клеток трофобласта в коллагене при раннем самопроизвольном выкидыше по сравнению с параметрами неосложненной беременности [3]. Кроме того, в ткани децидуальной оболочки плацент, полученных после самопроизвольного выкидыша, отмечалось резкое снижение количества Cytokeratin-7-позитивных клеток по сравнению с таковым в плацентах женщин с неосложненной беременностью, что подтверждает угнетение инвазии клеток трофобласта в децидуальную оболочку плаценты и может обуславливать раннее самопроизвольное прерывание беременности.

В серии экспериментов *in vitro* мы оценили влияние децидуальных ЕК на инвазию клеток трофобласта. Было установлено, что при неосложненной беременности в клетках трофобласта после культивирования с децидуальными ЕК снижалась экспрессия мРНК MMP-9 и TIMP-2. Аналогичные изменения наблюдались и при самопроизвольном выкидыше. В эксперименте по изучению прямого влияния ЕК на миграцию клеток трофобласта в коллагене было установлено, что предварительная инкубация эксплантов ворсин хориона с децидуальными CD56+ ЕК приводила к существенному угнетению миграции клеток из ворсин трофобласта в коллагене как в случае неосложненной беременности, так и при

самопроизвольном выкидыше. Таким образом, ЕК ограничивают излишнюю инвазивную активность трофобласта, которая сравнима с таковой у опухолевых клеток [5]. При самопроизвольном выкидыше происходит чрезмерное угнетение инвазивного потенциала клеток трофобласта, что может являться причиной нарушения плацентации на ранних сроках гестации. Одним из факторов, участвующих в реализации ингибирующего действия ЕК на инвазию клеток трофобласта, по видимому, является IFN γ . По нашим данным, IFN γ резко угнетал инвазию клеток трофобласта в матрикеле как при физиологической беременности, так и при самопроизвольном выкидыше. Таким образом, ЕК играют важную роль в инвазии трофобласта, а их чрезмерная активация и угнетение инвазии трофобласта может вести к развитию раннего самопроизвольного выкидыша.

Заключение

Врожденный иммунитет играет ведущую роль в формировании и поддержании иммунологического равновесия в системе мать-плацента-плод. В децидуальной оболочке самыми многочисленными лейкоцитарными популяциями являются дЕК, характеризующиеся преобладанием экспрессии ингибирующих рецепторов и продукцией цитокинов, а также децидуальные макрофаги, в определении функциональной активности которых большое значение имеет баланс поляризации в M1 или M2-макрофаги. Особенности функционирования этих клеточных популяций во многом определяют характер течения беременности и развитие тканей плаценты. На уровне развивающейся плаценты в ранние сроки гестации происходит непосредственный контакт клеток материнского врожденного иммунитета и клеток инвазирующего цитотрофобласта плодового происхождения. Следует отметить, что как клетки врожденного иммунитета оказывают непосредственное влияние на клетки трофобласта, инвазирующего материнскую часть плаценты, так и сам трофобласт способен к регуляции активности ЕК и макрофагов. В результате этого контакта осуществляется контроль инвазии трофобласта, цитокинового фона и регуляция функциональной активности клеток материнской иммунной системы. Изменение функционирования дЕК и макрофагов может приводить к нарушению материнского иммунного ответа на плод и вызывать досрочное прерывание беременности.

Литература

1. Роль IFN γ в регуляции функциональной активности децидуальных естественных киллеров при беременности / Сотникова Н. Ю. [и др.] // Иммунология. — 2010. — № 3 (31). — С. 136–139.

2. Сельков С. А., Павлов О. В. Плацентарные макрофаги. — М.: Товарищество научных изданий КМК, 2007. — 186 с.
3. Сотникова Н. Ю. Иммуные механизмы регуляции инвазии трофобласта // Российский иммунологический журнал. — 2012. — Т. 6 (14), № 2(1). — С. 9–13.
4. Berger J. P., Akiyama T. E., Meinke P. T. PPARs: therapeutic targets for metabolic disease // Trends. Pharmacol. Sci. — 2005. — Vol. 26. — P. 244–251.
5. Bulmer J. N., Williams P. J., Lash G. E. Immune cells in the placental bed // Int. J. Dev. Biol. — 2010. — Vol. 54. — P. 281–294.
6. Cooper M. A., Fehniger T. A., Caligiuri M. A. The biology of human natural killer — cell subsets // Trends. Immunol. — 2001. — Vol. 22. — P. 633–640.
7. Curry T. S., Osteen K. G. The matrix metalloproteinase system: changes, regulation and impact throughout the ovarian and uterine reproductive cycle // Endocrine Reviews. — 2003. — Vol. 24, N. 4 — P. 428–465.
8. Evidence implicating peroxisome proliferator-activated receptor- γ in the pathogenesis of preeclampsia / McCarthy F. P. [et al.] // Hypertension. — 2011. — Vol. 58. — P. 882–887.
9. Expression and function of PPAR γ in rat placental development / Asami-Miyagishi R. [et al.] // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 2004. — Vol. 315. — P. 497–501.
10. HLA-E is expressed on trophoblast and interacts with CD94/NKG2 receptors on decidual NK cells / King A. [et al.] // Eur. J. Immunol. — 2000. — Vol. 30, N. 6. — P. 1623–1631.
11. Human placental peroxisome proliferator-activated receptor delta and gamma expression in healthy pregnancy and in preeclampsia and intrauterine growth restriction / Rodie V. A. [et al.] // J. Soc. Gynecol. Investig. — 2005. — Vol. 12. — P. 320–329.
12. Koga K., Mor G. Toll-like receptors at the maternal-fetal interface in normal pregnancy and pregnancy disorders // Am. Journal Reprod. Immunol. — 2010. — Vol. 63, N. 6. — P. 587–600.
13. Kusumi M., Yamashita T., Fujii T., Nagamatsu T. Expression patterns of lectin-like natural killer receptors, inhibitory CD94/NKG2A, and activating CD94/NKG2C on decidual CD56bright natural killer cells differ from those on peripheral CD56dim natural killer cells // J. Reprod. Immunol. — 2006. — Vol. 70, N. 1–2. — P. 33–42.
14. Lanier L. L. NK cell recognition // Annu. Rev. Immunol. — 2005. — Vol. 23. — P. 225–274.
15. Manaster I., Mandelboim O. The unique properties of uterine NK cells // Am. J. Reprod. Immunol. — 2010. — Vol. 63. — P. 434–444.
16. McCarthy F. P., Delany A. C., Kenny L. C., Walsh S. K. PPAR- γ a possible drug target for complicated pregnancies // British J. Pharmacology. — 2013. — Vol. 168. — P. 1074–1085.
17. McCracken S. A., Gallery E., Morris J. M. Pregnancy-specific down regulation of NF- κ B expression in T cells in humans is essential for the maintenance of the cytokine profile required for pregnancy success // J. Immunology. — 2004. — Vol. 172. — P. 4583–4591.
18. Moffett-King A. Natural killer cells and pregnancy // Nat. Rev. Immunol. — 2002. — Vol. 2, N 9. — P. 656–663.
19. Mourik van M. S., Macklon N. S., Heijnen C. J. Embryonic implantation: cytokines, adhesion molecules, and immune cells in establishing an implantation environment // J. Leukoc. Biol. — 2009. — Vol. 85, N 1. — P. 4–19.
20. Munoz-Suano A., Hamilton A. B., Betz A. G. Gimme shelter: the immune system during pregnancy // Immunological Reviews. — 2011. — Vol. 241. — P. 20–38.
21. Nagamatsu T., Schust D. J. The immunomodulatory roles of macrophages at the maternal-fetal interface // Reprod. Sci. — 2010. — Vol. 17, N. 3. — P. 209–218.
22. NK cell regulation of T cell-mediated responses / Zingoni A. [et al.] // Mol. Immunol. — 2005. — Vol. 42. — P. 451–454.
23. Otun H. A., Lash G. E., Innes B. A., Bulmer J. N. Effect of tumour necrosis factor- α in combination with interferon- γ on first trimester extravillous trophoblast invasion // J. Reprod. Immunol. — 2011. — Vol. 88. — P. 1–11.
24. Parham P. NK Cells and Trophoblasts: partners in pregnancy // J. Exp. Med. — 2004. — Vol. 200, N. 8. — P. 951–955.
25. Peroxisome proliferator-activated receptors: new players in the field of reproduction / Toth B. [et al.] // Am. J. Reprod. Immunol. — 2007. — Vol. 58. — P. 289–310.
26. PPAR γ represses VEGF expression in human endometrial cells: implications for uterine angiogenesis / Peeters L. L. [et al.] // Angiogenesis. — 2005. — Vol. 8. — P. 373–379.
27. PPAR γ /RXR α heterodimers control human trophoblast invasion / Tarrade A. [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2001. — Vol. 86. — P. 5017–5024.
28. Preimplantation human blastocyst-endometrial interactions: the role of inflammatory mediators / Sinderen Van M. [et al.] // Am. J. Reprod. Immunol. — 2012. — doi: 10.1111/aji.12038. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/advanced> (дата обращения 11.04.2013).
29. Regulation of human trophoblast migration and invasiveness / Chakraborty C. [et al.] // Can. J. Physiol. Pharmacol. — 2002. — Vol. 80. — P. 116–124.
30. Sanguansermsr D., Pongcharoen S. Pregnancy immunology: decidual immune cells // Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology. — 2008. — Vol. 26. — P. 171–181.
31. Santoni A., Carlino C., Stabile H., Gismondi A. Mechanisms underlying recruitment and accumulation of decidual NK cells in uterus during pregnancy // Am. J. Reprod. Immunol. — 2008. — Vol. 59. — P. 417–424.
32. Schaiff W. T., Barak Y., Sadovsky Y. The pleiotropic function of PPAR γ in the placenta // Mol. Cell. Endocrinol. — 2006. — Vol. 249. — P. 10–15.
33. Shapiro H., Lutaty A., Ariel A. Macrophages, meta-inflammation, and immuno-metabolism // Scientific World J. — 2011. — Vol. 11. — P. 2509–2529.
34. Sica A., Mantovani A. Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas // J. Clin. Invest. — 2012. — Vol. 122, N. 3. — P. 787–795.
35. The distribution of CD56dimCD16+ and CD56brightCD16-cells are associated with prolactin levels during pregnancy and

- menstrual cycle in healthy women / Martinez-Garcia E.A. [et al.] // *Am. Journal Reprod. Immunol.* — 2011. — Vol. 65. — P. 433–437.
36. *Tripathi P., Naik S., Agrawal S.* HLA-E and immunobiology of pregnancy // *Tissue Antigens.* — 2006. — Vol. 67, N. 3. — P. 207–213.
37. Trophoblast-macrophage interactions: a regulatory network for the protection of pregnancy / Fest S. [et al.] // *Am. J. Reprod. Immunol.* — 2007. — Vol. 51. — P. 55–66.
38. Two unique human decidual macrophage populations / Houser B.L. [et al.] // *Immunol.* — 2011. — Vol. 186, N. 4. — P. 2633–2642.
39. *Warning J.C., McCracken S.A., Morris J.M.* Balancing act: mechanisms by which the fetus avoids rejection by the maternal immune system // *Reproduction.* — 2011. — Vol. 141. — P. 715–724.
40. *Whitley G.S., Cartwright J.E.* Cellular and molecular regulation of spiral artery remodelling: lessons from the cardiovascular field // *Placenta.* — 2010. — Vol. 31. — P. 465–474.

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

THE ROLE OF INNATE IMMUNITY CELLS IN PREGNANCY SUCCESS DURING EARLY TERM OF GESTATION

Sotnikova N. Yu., Antsiferova Yu. S., Kroshkina N. V.,
Voronin D. N.

■ **Summary:** The innate immunity plays an important role in the development and maintenance of the immune balance at the fetal-maternal interface. NK and macrophages dominate in decidua at early stages of pregnancy. Interaction of innate immunity cells and invasive cytotrophoblast is a key factor defining regulation of maternal immune response and the development of placental tissues at early gestation period.

■ **Key words:** pregnancy; innate immunity; trophoblast; invasion.

■ Адреса авторов для переписки

Сотникова Наталья Юрьевна — д. м. н., профессор, зав. лабораторией. ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В. Н. Городкова» МЗ РФ. 153045, Россия, Иваново, Победы ул., д. 20. **E-mail:** niimid.immune@mail.ru.

Анциферова Юлия Станиславовна — д. б. н., с. н. с. ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В. Н. Городкова» МЗ РФ. 153045, Россия, Иваново, Победы ул., д. 20. **E-mail:** niimid.immune@mail.ru.

Крошкина Наталья Владимировна — к. б. н., н. с. ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В. Н. Городкова» МЗ РФ. 153045, Россия, Иваново, Победы ул., д. 20. **E-mail:** niimid.immune@mail.ru.

Воронин Дмитрий Николаевич — к. б. н., н. с. ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В. Н. Городкова» МЗ РФ. 153045, Россия, Иваново, Победы ул., д. 20. **E-mail:** niimid.immune@mail.ru.

Sotnikova Natalya Yuryevna — MD, professor, head of laboratory. V.N. Gorodkov Research Institute of Maternity and Childhood, Ministry of Healthcare of the Russian Federation. 153045, Ivanovo, Pobedy St., 20, Russia. **E-mail:** niimid.immune@mail.ru.

Antsiferova Yuliya Stanislavovna — senior scientific worker, BD. V.N. Gorodkov Research Institute of Maternity and Childhood, Ministry of Healthcare of the Russian Federation. 153045, Ivanovo, Pobedy St., 20, Russia. **E-mail:** niimid.immune@mail.ru.

Kroshkina Natalya Vladimirovna — PhD, scientific worker. V.N. Gorodkov Research Institute of Maternity and Childhood, Ministry of Healthcare of the Russian Federation. 153045, Ivanovo, Pobedy St., 20, Russia. **E-mail:** niimid.immune@mail.ru.

Voronin Dmitriy Nikolayevich — PhD, scientific worker. V.N. Gorodkov Research Institute of Maternity and Childhood, Ministry of Healthcare of the Russian Federation. 153045, Ivanovo, Pobedy St., 20, Russia. **E-mail:** niimid.immune@mail.ru.