

О.В. Павлов, С.А. Сельков

## ИММУНОЛОГИЯ РЕПРОДУКЦИИ: СТАРЫЕ ДОГМЫ И НОВЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ

Лаборатория иммунологии  
с группой диагностики СПИД  
и фармакологической группой,  
Научно-исследовательский институт  
акушерства и гинекологии  
им. Д.О. Отта РАМН, Санкт-Петербург

■ В статье представлен обзор современных представлений о роли компонентов иммунной системы в регуляции гестационных процессов. Приводятся доказательства участия иммунокомпетентных клеток и цитокинов в патогенезе гестоза и невынашивания беременности. Предпринята попытка продемонстрировать эволюцию взглядов и концепций в данной области исследований за последние 10–15 лет.

■ Ключевые слова: беременность, роды, невынашивание, гестоз, фетоплацентарный комплекс, цитокины, иммунокомпетентные клетки

Необходимость изучения самых тонких механизмов, лежащих в основе гестационных процессов сегодня является очевидной, поскольку частота прерывания беременности на разных сроках, снизившись до определенного уровня, длительное время остается постоянной величиной. Это связано, в первую очередь, с недостаточностью наших знаний процессах, обеспечивающих физиологическое развитие беременности, а также об их нарушениях, приводящих к тем или иным акушерским патологиям. Выяснение тонких механизмов, регулирующих эти процессы на тканевом и клеточном уровнях, имеет не только теоретическое значение, но и несомненную практическую значимость для предупреждения и лечения патологий беременности.

Фетоплацентарный комплекс является уникальным образованием, в котором становятся возможны контакты между двумя генетически чужеродными организмами. Для объяснения парадоксального с точки зрения трансплантационной иммунологии факта «мирного сосуществования» на протяжении многих месяцев материнского организма и семиаллогенного плода было выдвинуто несколько теоретически обоснованных гипотез, но ни одна из них не может претендовать на исчерпывающее объяснение феномена беременности.

Одной из центральных проблем иммунологии репродукции является исследование иммунных процессов, обеспечивающих нормальное течение беременности и родовой деятельности, а также выяснение патогенетических механизмов, приводящих к отклонениям от физиологического хода гестации.

Взаимодействие между организмами матери и плода сводятся, в конечном счете, к взаимодействию их клеток. Это взаимодействие может осуществляться как при непосредственном контакте клеток, так и с помощью выделяемых ими различных растворимых молекул, важное место среди которых занимают цитокины.

## Цитокины и беременность

Цитокины были открыты как факторы, выделяемые иммунокомпетентными клетками и модулирующие их функции. И хотя давно установлено, что сфера действия этих молекул не ограничивается рамками иммунной системы, они являются неотъемлемой частью многих иммунных реакций и в таком контексте правомерно могут рассматриваться как компонент иммунной системы.

Наблюдаемая в последнее десятилетие волна интереса к цитокинам не обошла стороной и проблемы репродуктологии. Появилось немало интересных работ, убедительно демонстрирующих важную роль цитокинов в регуляции гестационных процессов. При этом в научной литературе можно проследить две линии исследований, два подхода.

Существование этих двух подходов обусловлено объективными причинами: существованием двух взаимосвязанных уровней

цитокиновой регуляции гестации — системного и локального.

В конце XX века Wegmann и соавторы предложили гипотезу, которая объясняет исход беременности иммунными реакциями, происходящими в организме матери [47]. Эта гипотеза основывается на наличии двух типов иммунного ответа: Th1 и Th2, обусловленных разными подклассами Т-хелперов — 1-го и 2-го типов соответственно. Th1-тип ответа характеризуется продукцией интерферона- $\gamma$  (IFN $\gamma$ ), фактора некроза опухоли  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), интерлейкинов (IL) -2 и -12 и преимущественно клеточными реакциями иммунитета, тогда как Th2-клетки продуцируют IL-4, IL-5, IL-6, IL-9 и IL-10 и индуцируют гуморальный иммунный ответ. Th1- и Th2-типы ответа вызываются различными группами инфекционных агентов и взаимно ингибируют друг друга. Экспериментальный материал, полученный, главным образом, в опытах с животными, позволил предположить, что тип иммунного ответа может детерминировать исход беременности. Предполагается, что при нормальном течении беременности доминирует Th2-тип иммунного ответа, тогда как переход от преимущественно гуморального (Th2) к преимущественно клеточному иммунитету (Th1) является пагубным для беременности и ведет к ее преждевременному прерыванию. Рядом авторов были получены результаты, свидетельствующие в пользу данной гипотезы. Так, было показано, что у женщин с рекуррентными спонтанными абортами лимфоциты периферической крови продуцировали преимущественно Th1-цитокины [20, 26].

Одним из наиболее вероятных экзогенных факторов, обуславливающих такой сдвиг, могут служить инфекционные агенты. Было показано, что внутриклеточные паразиты *Leishmania major*, *Plasmodium falciparum* и *Toxoplasma gondii*, провоцирующие сдвиг в сторону Th1-типа иммунного ответа, вызывают преждевременную потерю беременности. С другой стороны, сдвиг в сторону Th2-типа иммунного ответа при нормальной беременности делает беременных более уязвимыми для этих инфекций.

Предполагается, что характерные для Th1-ответа цитокины реализуют свой патологический эффект либо непосредственно повреждая плаценту, либо активируя цитотоксические клетки.

Другая акушерская патология — гестоз — по данным ряда авторов также характеризуется преобладанием продукции Th1-цитокинов мононуклеарами периферической крови матери [32].

При гестозе было отмечено возрастание уровня TNF $\alpha$  и IL-6 в плазме крови [11] и увеличение продукции IL-6 моноцитами [44]. Авторы предполагают, что эти цитокины могут

вызывать эндотелиальную дисфункцию и вызывают возникновение гестоза с нарушениями неспецифического звена иммунной системы.

Следует, однако, отметить, что наряду с экспериментальными результатами, подтверждающими гипотезу о том, что беременность является «Th2-феноменом», существуют и факты, не укладывающиеся в данную схему. Fallon и соавторы показали, что мыши, лишенные генов цитокинов, характерных для Th2-ответа (IL-4, IL-5, IL-9, IL-13), обладали нормальными репродуктивными функциями [13]. Введение беременным мышам экзогенных IL-4 (Th2) или IL-12 (Th1) приводило к одинаковым результатам: резорбции плода и развития признаков преэклампсии [16]. Sacks и соавторы продемонстрировали отсутствие сдвига в сторону Th2 ответа у женщин с нормально протекающей беременностью по сравнению с небеременными женщинами [39]. Авторы объясняют результаты применением метода проточной цитометрии для определения внутриклеточной продукции цитокинов, что является более корректным подходом по сравнению с применявшимися другими исследователями методами детекции цитокинов во внеклеточной среде. На основании полученных результатов авторы делают вывод о том, что моноциты крови беременных «примированы» в отношении продукции Th1 цитокина IL-12.

Кроме того, высказываются сомнения в правомерности деления Т-хелперов на подтипы, поскольку клоны и отдельные Т-клетки демонстрируют широкое разнообразие своих «цитокиновых профилей», вместе составляя непрерывный спектр, в котором Th1 и Th2 являются только двумя из возможных крайних фенотипов.

Таким образом, результаты последних лет если не опровергают полностью «Th1/Th2-парадигму» беременности, то предостерегают от механического применения и распространения ее на все аспекты иммунных процессов во время беременности. При этом высказываются мнения, что роль главного регуляторного звена выполняют клетки, осуществляющие реакции врожденного иммунитета [10].

Наряду с изучением закономерностей системных регуляторных процессов в организме матери все больший интерес привлекают локальные механизмы, которые реализуются на уровне тканей и клеток фетоплацентарного комплекса. По мнению многих исследователей, занимающихся данной проблемой, именно эти процессы оказывают наибольшее влияние на протекание и исход беременности и именно здесь происходят основные события, как обеспечивающие сохранение беременности, так и приводящие к ее патологиям.

Основанием для таких утверждений служат преимущественно короткодистантный (ауто- и паракринный) характер действия цитокинов, обнаружение широкого спектра цитокинов во внутриматочном компартменте, а также наличие в тканях фетоплацентарной области клеток, способных продуцировать эти цитокины.

Данные экспериментов все больше убеждают нас в том, что в пределах фетоплацентарного комплекса существует тонко сбалансированная система контроля репродуктивных процессов, которая функционирует на протяжении всей беременности. Эта система очень сложна; ее звенья переплетаются, дублируют, а подчас и взаимоисключают друг друга. Результатом же ее деятельности является нормально протекающая беременность. К сожалению, наши знания не дают сегодня возможности представить этот механизм во всей его полноте и сложности. Существенным шагом в этом направлении является сформировавшееся в последнее десятилетие представление о цитокиновой сети плаценты — сети, элементы которой участвуют как в регуляции нормального развития плода, так и в реализации механизмов преждевременного прерывания беременности. В плаценте обнаружены все известные цитокины, а их на сегодняшний день насчитывается уже несколько десятков.

Результаты исследований указывают на то, что цитокины могут играть центральную регуляторную роль во многих процессах, происходящих в пределах фетоплацентарного комплекса.

Началом исследований внутриматочных цитокинов можно считать серию работ R. Romero и соавторов, изучавших изменение уровня провоспалительных цитокинов при преждевременных родах инфекционного генеза.

По мере накопления экспериментальных данных менялись представления об участии цитокинов в родовом акте. Если вначале повышенная продукция цитокинов в матке рассматривалась исключительно как признак преждевременных родов, спровоцированных инфекцией [37, 38], то дальнейшие исследования *in vivo* и *in vitro* продемонстрировали связь между наступлением родов (как срочных, так и преждевременных) и усилением продукции некоторых цитокинов тканями фетоплацентарного комплекса [24, 41].

В настоящее время складывается убеждение, что этот феномен является общим для спонтанной родовой деятельности независимо от вызывающих ее причин и срока гестации. В последние годы получен ряд доказательств этого положения, что дает основания для выдвижения гипотезы о сходстве механизмов преждевременного и срочного родоразрешения.

Накоплено значительное количество данных, свидетельствующих об увеличении содер-

жания TNF $\alpha$  в амниотической жидкости при преждевременных родах [22] и в цервикагинальных секретах при срочных родах [42]. В околоплодных водах при преждевременных и срочных родах возрастала активность IL-1, IL-6 и IL-8 [21, 23, 24].

Интересно, что активность IL-1 в III триместре беременности связана, главным образом, с IL-1 $\alpha$ , тогда как наблюдаемое повышение уровня IL-1 в связи с родами происходит за счет  $\beta$ -формы. Увеличение концентрации IL-1, IL-6 и IL-8 наблюдалось в цервикагинальных секретах у женщин со спонтанной родовой деятельностью, развившейся как в срок, так и преждевременно [41, 42]. Постепенное нарастание содержания TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 и IL-8 в нижнем сегменте матки по мере приближения момента срочных родов также свидетельствует о возможной роли этих цитокинов в процессе родов.

В экспериментах *in vitro* была продемонстрирована способность гестационных тканей вырабатывать те цитокины, изменение концентрации которых коррелирует с родовой деятельностью. Показано, что IL-1 $\alpha$  и IL-6 выделяются эксплантатами плаценты и плодовых оболочек в культуре, и повышение уровня их продукции связано с началом родов [23, 24]. Эти же ткани являются источниками IL-8 [25]. Эксплантаты плаценты при культивировании продуцировали IL-1, преимущественно IL-1 $\beta$ , причем уровень продукции IL-1 в образцах, полученных в результате спонтанных родов, был выше, чем в полученных до развития спонтанной родовой деятельности. Сообщалось также о продукции TNF $\alpha$  *in vitro* хориодецидуальными и плацентарными эксплантатами [22].

Убедительным доказательством способности гестационных тканей синтезировать определенные цитокины служат эксперименты с использованием метода полимеразной цепной реакции (PCR). Результаты этих опытов свидетельствуют не только о наличии мРНК для TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 и IL-8, но и об увеличении их количества с началом родов.

Таким образом, продукция молекул, участвующих в инициации и/или регуляции родовой деятельности, может происходить исключительно в пределах фетоплацентарного комплекса.

Следует отметить, что окончательно не выяснено, является ли повышение уровня некоторых провоспалительных цитокинов в матке причиной возникновения сокращений миометрия или следствием этого процесса. Однако большинство авторов все же склоняется к тому, что цитокины фетоплацентарного комплекса могут запускать последовательные реакции, приводящие к сокращению матки. В пользу этого предположения говорит тот факт, что в родах возрастает уровень цитоки-



нов, способных регулировать продукцию простагландинов PGE2 и PGF2 $\alpha$ , играющих ключевую роль в стимуляции сократительной активности миометрия.

Популярность гипотезы об определяющей роли типа иммунного ответа в исходе беременности нашла свое отражение в исследованиях регуляторных механизмов фетоплацентарного комплекса. По сообщениям ряда авторов им удалось подтвердить предположение о том, что нормальное развитие беременности связано с продукцией Th2-цитокинов, тогда как при нарушении и патологиях беременности клетки фетоплацентарного комплекса продуцировали преимущественно цитокины, характерные для Th1-ответа [4, 31].

Вместе с тем появляется все больше публикаций, авторы которых не обнаружили столь однозначной зависимости и высказывают сомнения в применимости данной гипотезы к объяснению гестационных процессов у человека [9, 12].

Очевидно, что «Th1/Th2-парадигма беременности» будучи на определенном этапе весьма плодотворной, в свете накопленных и вновь открывающихся фактов представляется чрезвычайно упрощенной схемой, которая не может вместить всего многообразия и сложности открывающейся перед нами картины регуляторных взаимоотношений клеток и тканей в беременной матке. Так, ряд недавно открытых цитокинов, не подпадает под классическое деление на Th1- и Th2-типы [9]. Кроме того, при обсуждении цитокиновой регуляции беременности следует строго привязывать наблюдаемый феномен к конкретному гестационному этапу, поскольку, судя по всему, имеет место стадийная специфичность продукции цитокинов во время беременности. Так, известно, что имплантация сопровождается воспалительными реакциями, и для ее успешного осуществления необходимы цитокины, которые в рамках Th1/Th2-гипотезы рассматриваются как одно-значно abortогенные. Следует также отметить важную роль цитокинов, в том числе характеризующихся как провоспалительные (IL1, IFN $\gamma$  и TNF $\alpha$ ) в эмбриогенезе, особенно на его ранних этапах [2]. Кроме того, эффект того или иного цитокина зависит от его концентрации, времени действия и наличия специфических рецепторов на клетке-мишени. По-видимому, более корректным подходом было бы рассмотрение эффекта каждого цитокина в отдельности; при этом в каждом случае необходимо оговаривать условия его действия: место и время действия, дозу, срок гестации и т. д. Без учета этих условий результаты экспериментов могут быть прямо противоположными.

Дисбаланс сложной цитокиновой сети фетоплацентарного комплекса, вызванный раз-

личными причинами, может являться причиной таких нарушений беременности, как невынашивание и преэклампсия. Спонтанные аборт и преждевременные роды связываются, в первую очередь, с такими цитокинами, как IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , IL-1, IL-6 [2, 42].

В модельных опытах *in vitro* было показано, что компонент клеточной стенки — бактерий липополисахарид (LPS) — стимулирует продукцию TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-10 и простагландина E2 (PGE2) хориодецидуальной тканью [40]. При этом TNF $\alpha$  обладал стимулирующей активностью в отношении остальных цитокинов и PGE2, а IL-1 $\beta$  стимулировал только продукцию PGE2. IL-10, напротив, действовал как ингибитор TNF $\alpha$  и PGE2. Можно предположить, что *in vivo* инфекционный агент (или фактор иной природы) стимулирует секрецию провоспалительных цитокинов. Это приводит к увеличению продукции простагландинов и стимуляции сократительной активности миометрия. Согласно этим представлениям, целью терапевтического лечения в этом случае должно быть подавление продукции TNF $\alpha$ , а средством (негативным регулятором) может выступать IL-10.

Сходная картина наблюдается и при преэклампсии: ряд авторов отмечали увеличение продукции TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-10, TGF $\beta$  [3, 36], снижение уровня секреции IL-6 [18] и очень высокий уровень IFN $\gamma$  [49] в ткани плаценты.

Другая группа исследователей, изучая секрецию цитокинов изолированными клетками трофобласта, напротив, не обнаружила изменения в продукции TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 при пре-эклампсии в сравнении с нормальной беременностью. Более того, у больных наблюдалось снижение секреции IL-10 [33]. На основании полученных результатов авторы делают вывод о критической роли дефицита противовоспалительных цитокинов в развитии патологии, не учитывая, однако, что источниками IL-10, также как и провоспалительных цитокинов, могут являться другие клетки плаценты, например, плацентарные макрофаги.

Фактором, вызывающим нарушение цитокинового баланса в тканях фетоплацентарного комплекса при развитии преэклампсии, может являться ишемия плаценты. Это предположение подтверждается опытами *in vitro*: экспланты ворсин плаценты, культивируемые при пониженном содержании кислорода, секретировали повышенные количества TNF $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  и IL-6 [5, 27].

### Иммунокомпетентные клетки фетоплацентарного комплекса

Клетки трофобласта, являясь основными структурными и функциональными элемента-

ми ворсин плаценты, естественно, представляют собой главный объект многих исследований. Достаточно хорошо изучены их морфологические и функциональные особенности, в том числе их существенный вклад в продукцию цитокинов и других биологически активных соединений в маточно-плацентарном компартменте. Ряд свойств и функций, в частности, способность продуцировать широкий спектр цитокинов и ростовых факторов, экспрессия специфических поверхностных и внутриклеточных маркеров, способность к фагоцитозу делают их сходными с клетками иммунной системы и позволяют исследователям рассматривать их как одно из звеньев врожденного иммунитета, тесно связанное и взаимодействующее с другими иммунокомпетентными клетками [14, 15].

Однако эта тема по своему объему требует отдельного рассмотрения и выходит за рамки данной публикации, поэтому мы ограничимся кратким обзором тех клеток, которые традиционно относят к иммунной системе.

На сегодняшний день принято выделять три основных типа иммунокомпетентных клеток фетоплацентарного комплекса, присутствующих в плаценте на протяжении всей беременности или какого-то из ее этапов.

Наиболее изученной является популяция клеток, фигурирующих в разных источниках под разными названиями: большие гранулярные лимфоциты (LGL), эндометриальные гранулярные лимфоциты (EGL) или неклассические естественные киллеры (NK). К NK-клеткам их относят, так как они несут специфический маркер CD56, однако, в отличие от классических NK-клеток, в данных клетках отсутствует другой характерный маркер — CD16. Поэтому, чтобы избежать двусмысленности, многие авторы предпочитают обозначать эти клетки по их фенотипу — как CD56<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup>. В периферической крови клетки с таким фенотипом составляют менее 1%, тогда как в децидуальной ткани их доля в общем числе лейкоцитарных клеток доходит до 70%. [6]. Отсутствие на поверхности клеток молекул CD16, которые представляют собой рецепторы к Fc-фрагменту иммуноглобулина G, очевидно делают их неспособными к реакциям антителозависимой клеточной цитотоксичности.

Эти клетки обладают слабой цитолитической активностью в отношении клеток-мишеней естественных киллеров K562, но приобретают это свойство после стимуляции IL-2. Способность продуцировать целый ряд цитокинов (TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , LIF, G-CSF, GM-CSF, M-CSF) позволяет предположить, что эти клетки могут играть регуляторную роль. Следует отметить, что их количество возрастает с началом беременности, достигая максимума к

концу I триместра, а затем начинает снижаться [45]. Этим клеткам приписываются функции контроля за инвазией трофобласта и ростом плаценты [6]. Возможно, именно децидуальные NK-клетки играют важную роль в патогенезе гестоза, поскольку они участвуют в процессах трансформации спиральных артерий матки трофобластом. Увеличение количества NK-клеток при преэклампсии было обнаружено в децидуальной ткани поздних гестационных сроков, что также может свидетельствовать о роли этих клеток в развитии патологии. Однако эти клетки имели фенотип классических NK, циркулирующих в периферической крови — CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup>, а не децидуальных — CD16<sup>-</sup>CD56<sup>+</sup> [49].

Кроме того, ряд экспериментальных данных свидетельствует о роли NK-клеток в спонтанном преждевременном прерывании беременности. Так, показано, что децидуальные клетки с характеристиками NK обладают цитотоксичностью в отношении плода и клеток трофобласта [2]. Отмечается также увеличение активности NK-клеток периферической крови при спонтанном аборте. У пациенток с высокой активностью NK-клеток частота спонтанных абортов более чем в 3 раза выше, чем у женщин с нормальным уровнем их активности [2]. Хотя NK-клетки рассматриваются в качестве наиболее вероятного эффекторного звена при отторжении плода, их наличие, очевидно, является необходимым и для успешного сохранения беременности [10].

Популяция T-клеток является самой малочисленной среди иммунокомпетентных клеток фетоплацентарного комплекса — до 20% и их количество остается примерно постоянным на протяжении беременности. В отличие от лимфоцитов периферической крови, где преобладающей является субпопуляция CD4<sup>+</sup> (T-хелперы), в ткани эндометрия и децидуа более двух третей составляют CD8<sup>+</sup> (цитотоксические T-лимфоциты) [6, 45]. Менее ясная ситуация с формами T-клеточного рецептора. Одни исследователи не обнаружили ни  $\alpha\beta$ -, ни  $\gamma\delta$ -рецепторов в T-клетках децидуальной ткани, другие обнаружили преобладание  $\gamma\delta$ -формы [6], однако согласно современным представлениям, большая часть T-клеток как и в периферической крови, несет  $\alpha\beta$ -рецептор [45].

После возникновения «Th1/Th2-парадигмы беременности» появилось множество публикаций, объясняющих феномены, наблюдаемые в беременной матке как в норме, так и при различных патологиях в соответствии с этой гипотезой. При этом часто подразумевалось, что тот или иной тип ответа обеспечивают T-лимфоциты, и не оговаривалось, имеются ли в виду T-клетки периферической крови или локальная популяция в децидуа. Однако, принимая во



внимание малочисленность популяции Т-клеток и преобладание  $CD^{8+}$ -клеток над  $CD^{4+}$  Т-хелперами, а также тот факт, что и другие более многочисленные популяции клеток плаценты способны продуцировать широкий спектр цитокинов, характерных как для Th2, так и для Th1-типов ответа, многие исследователи высказывают сомнения относительно определяющей роли Т-клеток плаценты в регуляции беременности по данной схеме, оставляя за этими клетками возможную роль в процессе имплантации [45]. Существует и точка зрения о том, что Т-клетки играют более существенную роль в физиологических и патологических гестационных процессах на более поздних этапах. Так, сообщалось, что количество  $CD^{4+}$ -клеток снижалось при преэклампсии [49]. Очевидно, что этот вопрос требует дальнейшего изучения.

Наконец, третья группа — макрофаги. По нашему мнению, эти клетки заслуживают гораздо большего внимания, чем им уделялось до недавнего времени. Появившиеся в последние годы работы, посвященные этим клеткам, свидетельствуют о том, что макрофаги фетоплацентарного комплекса, вероятно, выполняют важные регуляторные функции в гестационных процессах и могут играть ключевую роль в генезе некоторых патологий беременности, в частности невынашивании и преэклампсии.

Следует отметить, что большие гранулярные лимфоциты и Т-клетки локализованы преимущественно в децидуальной, т. е. материнской части плаценты. В отличие от них макрофаги представлены как в децидуе, так и в плодовой части плаценты, в первую очередь, в строме ворсин хориона. Эта популяция не является однородной: макрофаги децидуальной части имеют материнское происхождение и составляют до 30% всех лейкоцитов децидуы, а макрофаги хориона, или так называемые клетки Кашенко—Гофбауэра являются клетками плода, и составляют до 40% всех нетрофобластных клеток ворсин.

Можно считать, что мононуклеарные фагоциты представляют самую многочисленную популяцию иммунокомпетентных клеток плаценты, а в ворсинах хориона они являются фактически единственными иммунокомпетентными клетками.

Хорошо известно, что мононуклеарные фагоциты являются одним из основных типов клеток иммунной системы, обеспечивающим многочисленные регуляторные и эффекторные функции. Плюрипотентность плацентарных макрофагов находит отражение в перечне приписываемых им функций. Это защита плода от инфекции, участие в приобретении пассивного иммунитета, участие в ремоделировании маточно-плацентарной ткани, избирательное связывание антиплодовых антител и комплексов

антиген-антитело, презентация антигена и иммуносупрессия [17].

Достаточно широк спектр продуцируемых этими клетками биологически активных молекул (цитокинов и ростовых факторов):  $TNF\alpha$ ,  $IFN\gamma$ , IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, G-CSF, GM-CSF, M-CSF, VEGF. В этот список входят и те цитокины, внутриматочное содержание которых изменяется с началом спонтанной родовой деятельности —  $TNF\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-8. Предполагается, что эти цитокины, продуцируемые макрофагами, стимулируют синтез простагландинов и других цитокинов близлежащими клетками и тем самым инициируют сократительную активность матки как при срочных родах, так и при преждевременном отторжении плода [29, 38].

Более того, показано, что макрофаги могут самостоятельно продуцировать мощные стимуляторы сокращения маточной мускулатуры —  $PGE_2$  и  $PGF_{2\alpha}$  [30, 48].

Макрофаги также способны к секреции трансформирующего ростового фактора  $\beta$  ( $TGF\beta$ ), который играет важную роль в эмбриональном морфогенезе и влияет на функции клеток трофобласта и эндометрия, а также иммунокомпетентных клеток [46].

Также известно, что ряд продуцируемых макрофагами цитокинов (в частности, провоспалительные цитокины  $TNF\alpha$ , IL-1 и IL-6) обладают активностью в отношении эндотелиальных клеток сосудов. Так, эндогенный IL-1 $\beta$  снижает продолжительность жизни клеток эндотелия, действуя внутриклеточно на уровне ядра.  $TNF\alpha$  в небольших количествах и при кратковременном воздействии стимулирует образование сосудов. Однако длительное воздействие или повышение концентрации этого цитокина — а это повышение и наблюдается при преждевременных родах — вызывает торможение пролиферации и апоптоз клеток эндотелия, что в условиях *in vivo* может приводить к нарушениям микроциркуляции в ткани плаценты [45].

Существуют данные о том, что плацентарные макрофаги способны оказывать влияние на основной тип клеток ворсин хориона — нитрофобласты. По данным одних исследователей макрофаги стимулируют рост и дифференцировку этих клеток посредством паракринной регуляции [19]. Согласно другим данным, макрофаги подавляют дифференцировку клеток трофобласта [8]. Наблюдаемое противоречие результатов, возможно, объясняется различием в методических подходах и различием гестационного возраста исследуемого материала.

В экспериментах *in vitro* были получены данные, свидетельствующие об участии плацентарных макрофагов в процессе родов. Авторы продемонстрировали связанное с родовой деятельностью увеличение секреции  $TNF\alpha$  макрофага-

ми, а также IL-1 $\beta$  и IL-6 эндотелиальными клетками плаценты [43]. Было также обнаружено увеличение продукции TNF $\alpha$  и IL-1 плацентарными макрофагами при спонтанном преждевременном прерывании беременности [1].

Синтез и секреция цитокинов, как правило, являются следствием активации макрофагов. Наиболее очевидным стимулом, приводящим к активации плацентарных макрофагов в условиях *in vivo*, является инфекционный агент. Стимуляция патогенами или компонентом их структуры — липополисахаридом (LPS) — достаточно хорошо изучена в экспериментах с животными и на моделях *in vitro*. Так, считается доказанной связь между воздействием LPS и увеличением продукции провоспалительных цитокинов и простагландинов клетками фетоплацентарного комплекса [24, 27]. Постулируется, что макрофаги играют значительную роль в повышении уровня этих цитокинов, и прежде всего простагландинов, которые индуцируют сократительную активность миометрия, что приводит к преждевременным родам или внутриутробной гибели плода.

Роль стимула, активирующего макрофаги, может выполнять не только инфекционный агент. Те же реакции могут быть вызваны и эндогенными причинами. Такими факторами могут быть сигнальные молекулы (гормоны, цитокины и др.) или локальное изменение концентрации кислорода, то есть гипоксия, имеющее место, в частности, при гестозе. Локальная гипоксия оказывает существенное влияние на продукцию цитокинов в периферических мононуклеарных клетках, тканевых макрофагах и макрофагах фетоплацентарного комплекса [48].

Исследования последних лет дают ряд свидетельств участия макрофагов в патогенезе невынашивания и гестоза. В недавнем исследовании Matsubara и соавторы продемонстрировали активацию плацентарных макрофагов при спонтанном аборте инфекционного генеза [28].

Reister и соавторы обнаружили, что при преэклампсии нарушалась инфильтрация инвазивными трофобластами участков спиральных артерий, расположенных в миометрии. В сравнении с нормальной беременностью, в этих участках было выявлено повышенное содержание макрофагов [34]. Дальнейшие исследования привели авторов к выводу о том, что нарушение инвазивности клеток трофобласта может быть вызвано их апоптозом под влиянием выделяемых макрофагами TNF $\alpha$  и индоламин-2,3-диоксигеназы — фермента, который катаболизирует триптофан, тем самым лишая близлежащие клетки этой незаменимой аминокислоты [35].

Практически в то же время другая группа исследователей продемонстрировала, что в базальной пластине плацент при преэклампсии

макрофаги присутствуют в существенно меньшем количестве, чем в плацентах при нормальной беременности, тогда как в ворсинах хориона их присутствие не претерпевало заметных изменений [7]. Авторы объясняют этот феномен нарушениями механизма трансэндотелиальной миграции клеток при гестозе. Действительно ли имеет место столь существенное различие присутствия макрофагов в соседних участках фетоплацентарного комплекса, должны подтвердить дальнейшие исследования. Тем не менее уже сейчас можно сделать вывод о патогенетической роли макрофагов в развитии этого заболевания.

По нашему мнению, уникальность положения плацентарных макрофагов состоит в том, что, с одной стороны, они, как эффекторные клетки, вступают в непосредственный контакт с инфекционными агентами и иными продуктами, проникающими в организм хозяина (в данном случае в единую систему «мать—плацента—плод»), а с другой стороны, будучи активированы в результате этого контакта, способны продуцировать множество растворимых сигнальных молекул, влияющих на функции близлежащих клеток. Важным моментом в паракринной регуляции трофобластных или децидуальных клеток макрофагами является концентрация выделяемых ими цитокинов, в зависимости от которой один и тот же цитокин может вызывать в клетках-мишенях разные, часто даже противоположные эффекты. Уровень продукции цитокинов в зависимости от условий среды компартмента рассчитан на восприятие того или иного сигнала (ауто- или паракринного). Таким образом, именно макрофаг может выступать как звено сбора и переработки информации, поступающей от других клеток фетоплацентарной единицы. Известно, что сами макрофаги крайне чувствительны к действию цитокинов. По нашему мнению и по мнению других исследователей, в силу этого они обладают высоким потенциалом, чтобы служить критическими трансдукторами в цитокиновой сети маточно-плацентарных тканей и являться связующим звеном между локальным и системным уровнями регуляции, а значит и играть одну из центральных ролей как в регуляции физиологической беременности, так и в патогенезе различных ее нарушений.

Однако следует подчеркнуть, что данные рассуждения, которые можно найти в современной научной литературе, носят в значительной степени спекулятивный, гипотетический характер. Причиной этому является явный недостаток экспериментальных работ, связанных с изучением роли этих клеток и их продуктов в репродуктивных процессах. Очевидно, что дальнейший прогресс в этой области в большой мере зависит от степени интен-



сивности исследовательской работы и анализа полученных эмпирических данных.

Кратко резюмируя, следует сказать, что современную репродуктологию сегодня невозможно представить без ее иммунологической составляющей, которая представляет собой весьма внушительный набор экспериментального и теоретического материала и благодаря которой достигнут существенный прогресс в понимании многих закономерностей гестационных процессов и их патологий.

В данной статье мы рассмотрели лишь небольшую часть проблем иммунологии репродукции. Ее современное состояние можно охарактеризовать, во-первых, как этап накопления экспериментального материала. Наблюдаемая неоднозначность, а подчас и противоречивость результатов говорит как о сложности исследуемых процессов, так и о недостаточной их изученности.

Второй характерной чертой современного этапа является вероятность концептуальной эволюции (а может и революции), «Th1/Th2 парадигма беременности», пока еще сохраняя свои властвующие позиции, постепенно становится тесной для вновь открывающихся фактов и, возможно, в обозримом будущем подвергнется существенной ревизии. Постепенно формируется мнение о необходимости перехода от концепции «материнской толерантности» к концепции непрерывного «иммунологического диалога» в системе «мать—плод». При этом роль главного регуляторного звена переходит от лимфоцитов к клеткам, представляющим врожденное (неспецифическое) звено иммунитета.

## Литература

1. Павлов О.В., Сельков С.А., Селютин С.А., Ананьева В.В. Секрета фактора некроза опухоли- $\alpha$  и интерлейкина-1 плацентарными макрофагами *in vitro* при различных исходах беременности // Бюлл. экпер. биол. и мед. — 1999 — № 7. — С. 97–100.
2. Ширшев С.В. Механизмы иммунного контроля процессов репродукции. — Екатеринбург, 1999 — 383 с.
3. Benian A., Madaçlı R., Aksu F., Uzun H., Aydin S. Plasma and placental levels of interleukin-10, transforming growth factor-beta1, and epithelial-cadherin in preeclampsia // Obstet. Gynecol. — 2002. — Vol. 100. — P. 327–331.
4. Bennett W.A., Lagoo-Deenadayalan S., Whitworth N.S., et al. First-trimester human chorionic villi express both immunoregulatory and inflammatory cytokines: a role for interleukin-10 in regulating the cytokine network of pregnancy // Am. J. Reprod. Immunol. — 1999. — Vol. 41. — P. 70–78.
5. Benyo D.F., Miles T.M., Conrad K.P. Hypoxia stimulates cytokine production by villous explants from the human placenta // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1997. — Vol. 82. — P. 1582–1588.
6. Bulmer J.N. Immune cells in decidua // Immunology of Human Reproduction 251/ M. Kurpitz, N. Fernandez, eds. — BIOS Scientific Publishers, Oxford, 1995. — P. 313–334.
7. Burk M. R., Troeger C., Brinkhaus R., et al. Severely reduced presence of tissue macrophages in the basal plate of pre-eclamptic placentae // Placenta. — 2001. — Vol. 22. — P. 309–316.
8. Cervar M., Blaschitz A., Dohr G., Desoye G. Paracrine regulation of distinct trophoblast functions *in vitro* by placental macrophages // Cell. Tissue Res. — 1999. — Vol. 295. — P. 297–305.
9. Chaouat G., Zourbas S., Ostojic S., et al. A brief review of recent data on some cytokine expressions at the maternal-fetal interface which might challenge the classical Th1/Th2 dichotomy // J. Reprod. Immunol. — 2002. — Vol. 53. — P. 241–256.
10. Chaouat G. Innately moving away from the Th1/Th2 paradigm in pregnancy // Clin. Exp. Immunol. — 2003. — Vol. 131. — P. 393–395.
11. Conrad K.P., Miles T.M., Benyo D.F. Circulating levels of immunoreactive cytokines in women with preeclampsia // Am. J. Reprod. Immunol. — 1998. — Vol. 40. — P. 102–111.
12. Ekerfelt C., Lidstrom C., Matthiesen L., et al. Spontaneous secretion of interleukin-4, interleukin-10 and interferon-gamma by first trimester decidual mononuclear cells // Am. J. Reprod. Immunol. — 2002. — Vol. 47. — P. 159–166.
13. Fallon P.G., Jolin H.E., Smith P. et al. IL-4 induces characteristic Th2 responses even in the combined absence of IL-5, IL-9 and IL-13 // Immunity. — 2002. — Vol. 17. — P. 7–17.
14. Guilbert L., Robertson S.A., Wegmann T.G. The trophoblast as an integral component of a macrophage-cytokine network // Immunol. Cell. Biol. — 1993. — Vol. 71. — P. 49–57.
15. Guleria I., Pollard J.W. The trophoblast is a component of the innate immune system during pregnancy // Nat. Med. — 2000. — Vol. 6. — P. 589–593.
16. Hayakawa S., Fujikawa T., Fukuoka H., et al. Murine fetal resorption and experimental pre-eclampsia are induced by both excessive Th1 and Th2 activation // J. Reprod. Immunol. — 2000. — Vol. 47. — P. 121–138.
17. Hunt J.S. Cytokine networks in the uteroplacental unit: macrophages as pivotal regulatory cells // J. Reprod. Immunol. — 1989. — Vol. 16. — P. 1–17.
18. Kauma S.W., Wang Y., Walsh S.W. Preeclampsia is associated with decreased placental interleukin-6 production // J. Soc. Gynecol. Invest. — 1995. — Vol. 2. — P. 614–617.
19. Khan S., Katabuchi H., Araki M., et al. Villous macrophage-conditioned media enhance human trophoblast growth and differentiation *in vitro* // Biol. Reprod. — 2000. — Vol. 62. — P. 1075–1083.
20. Kwak-Kim J.Y., Chung-Bang H.S., Ng S.C., et al. Increased T helper 1 cytokine responses by circulating T cells are present in women with recurrent pregnancy losses and in infertile women with multiple implantation failures after IVF // Hum. Reprod. — 2003. — Vol. 18. — P. 767–773.
21. Laham N., Rice G.E., Bishop G.J., Ransome C., Brennecke S.P. Interleukin-8 concentrations in amniotic fluid and peripheral venous plasma during human pregnancy and parturition // Acta Endocrinol. — 1993. — Vol. 129. — P. 220–224.
22. Laham N., Brennecke S.P., Bendtzen K., Rice G.E. Tumour necrosis factor alpha during human pregnancy and labour: maternal plasma and amniotic fluid concentrations and release from intrauterine tissues // Eur. J. Endocrinol. — 1994. — Vol. 131. — P. 607–614.
23. Laham N., Brennecke S.P., Bendtzen K., Rice G.E. Differential release of interleukin-6 from human gestational tissues in association with labour and *in vitro* endotoxin treatment // J. Endocrinol. — 1996. — Vol. 149. — P. 431–439.
24. Laham N., Brennecke S.P., Bendtzen K., Rice G.E. Labour-associated increase in interleukin-1 alpha release *in vitro* by human gestational tissues // J. Endocrinol. — 1996. — Vol. 150. — P. 515–522.
25. Laham N., Brennecke S.P., Rice G.E. Interleukin-8 release from human gestational tissue explants: the effects of lipopolysaccharide and cytokines // Biol. Reprod. — 1997. — Vol. 57. — P. 616–620.



26. *Makhseed M., Raghupathy R., Azizieh F. et al.* Th1 and Th2 cytokine profiles in recurrent aborters with successful pregnancy and with subsequent abortions // *Hum. Reprod.* — 2001. — Vol. 16. — P. 2219–2226.
27. *Malek A., Sager R., Schneider H.* Effect of hypoxia, oxidative stress and lipopolysaccharides on the release of prostaglandins and cytokines from human term placental explants // *Placenta*. — 2001. — Vol. 22. — P. 545–550.
28. *Matsubara S., Takayama T., Yamada T. et al.* Hofbauer cell activation and its increased glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in second trimester-spontaneous abortion: an ultrastructural dual staining enzyme-cytochemical study // *Am. J. Reprod. Immunol.* — 2003. — Vol. 49. — P. 202–209.
29. *Mitchell M.D., Edwin S.S., Romero R.* Prostaglandin biosynthesis by human decidual cells: effects of inflammatory mediators // *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* — 1990. — Vol. 41. — P. 35–38.
30. *Norwitz E.R., Starkey P.M., Lopez A. et al.* Identification by flow cytometry of the prostaglandin-producing cell populations of term human decidua // *J. Endocrinol.* — 1991. — Vol. 131. — P. 327–334.
31. *Piccinni M.P., Beloni L., Livi C. et al.* Defective production of both leukemia inhibitory factor and type 2 T-helper cytokines by decidual T cells in unexplained recurrent abortions // *Nat. Med.* — 1998. — Vol. 4. — P. 1020–1024.
32. *Rein D.T., Schondorf T., Gohring U.J. et al.* Cytokine expression in peripheral blood lymphocytes indicates a switch to T(helper) cells in patients with preeclampsia // *J. Reprod. Immunol.* — 2002. — N 54. — P. 133–142.
33. *Rein D.T., Breidenbach M., Honscheid B. et al.* Preeclamptic women are deficient of interleukin-10 as assessed by cytokine release of trophoblast cells in vitro // *Cytokine*. — 2003. — Vol. 23. — P. 119–125.
34. *Reister F., Frank H.-G., Heyl W. et al.* The distribution of macrophages in spiral arteries of the placental bed in pre-eclampsia differs from that in healthy patients // *Placenta* — 1999. — Vol. 20. — P. 229–233.
35. *Reister F., Frank H.-G., John C. et al.* Macrophage-induced apoptosis limits endovascular trophoblast invasion in the uterine wall of preeclamptic women // *Lab. Invest.* — 2001. — Vol. 81. — P. 1143–1152.
36. *Rinehart B.K., Terrone D.A., Lagoo-Deenadayalan S. et al.* Expression of the placental cytokines tumor necrosis factor alpha, interleukin 1beta, and interleukin 10 is increased in preeclampsia // *Am. J. Obstet. Gynecol.* — 1999. — Vol. 181. — P. 915–920.
37. *Romero R.L., Mazor M.* Infection and preterm labor // *Clin. Obstet. Gynecol.* — 1988. — Vol. 31. — P. 553–559.
38. *Romero R.L., Avila C., Santhanam U., Sehgal P.B.* // Amniotic fluid interleukin 6 in preterm labor. Association with infection // *J. Clin. Invest.* — 1990. — Vol. 85. — P. 1392–1399.
39. *Sacks G.P., Redman C.W.G., Sargent I.L.* Monocytes are primed to produce the Th1 type cytokine IL-12 in normal human pregnancy: an intracellular flow cytometric analysis of peripheral blood mononuclear cells // *Clin. Exp. Immunol.* — 2003. — Vol. 131. — P. 490–497.
40. *Sato T.A., Keelan J.A., Mitchell M.D.* Critical paracrine interactions between TNF-alpha and IL-10 regulate lipopolysaccharide-stimulated human chorionic cytokine and prostaglandin E2 production // *J. Immunol.* — 2003. — Vol. 170. — P. 158–166.
41. *Steinborn A., Kuhnert M., Halberstadt E.* Immunomodulating cytokines induce term and preterm parturition // *J. Perinat. Med.* — 1996. — Vol. 24. — P. 381–390.
42. *Steinhorn A., Gunes H., Roddiger S., Halberstadt E.* Elevated placental cytokine release, a process associated with preterm labor in the absence of intrauterine infection // *Obstet. Gynecol.* — 1996. — Vol. 88. — P. 534–539.
43. *Steinborn A., von Gall C., Hindelbrand R. et al.* Identification of placental cytokine-producing cells in term and preterm labor // *Obstet. Gynecol.* — 1998. — Vol. 91. — P. 329–335.
44. *Steinborn A., Sohn C., Sayehli C. et al.* Preeclampsia, a pregnancy-specific disease, is associated with fetal monocyte activation // *Clin. Immunol.* — 2001. — Vol. 100. — P. 305–313.
45. *Vince G.S., Johnson P.M.* Leucocyte populations and cytokine regulation in human uteroplacental tissue // *Biochem. Soc. Trans.* — 2000. — Vol. 28. — P. 191–195.
46. *Vuckovic M., Genbacev O., Kumar S.* Immunohistochemical localisation of transforming growth factor-beta in first and third trimester human placenta // *Pathobiology*. — 1992. — Vol. 60. — P. 149–150.
47. *Wegmann T.G., Lin H., Guilbert L., Mosmann T.R.* Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a Th2 phenomenon? // *Immunol. Today*. — 1993. — Vol. 14. — P. 353–356.
48. *Weizka B., Clark D.E., Charnock-Jones D.S. et al.* Isolation of macrophages (Hofbauer cells) from human term placenta and their prostaglandin E2 and thromboxane production. // *Hum. Reprod.* — 1997. — Vol. 12. — P. 847–885.
49. *Wilczynski J.R., Tchorzewski H., Banasik M. et al.* Lymphocyte subset distribution and cytokine secretion in third trimester decidua in normal pregnancy and preeclampsia // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* — 2003. — Vol. 109. — P. 8–15.

#### REPRODUCTION IMMUNOLOGY: OLD DOGMAS AND NEW CONCEPTIONS

Pavlov O.V., Selkov S.A.

■ **The summary:** The article reviews the recent data concerning the role, which components of immune system play in the regulation of gestation. The evidences are provided for the participation of cytokines and immune cells in pathogenesis of pre-eclampsia and spontaneous abortion. The attempt has been made to demonstrate the evolution of ideas and conceptions in this field for past 10-15 years.

■ **Key words:** pregnancy, labor, spontaneous abortion, pre-eclampsia, uteroplacental complex, cytokines, immune cells