

Роль иммунных факторов в функционировании репродуктивной системы женщины

Мотовилова Н.О., центр Планирования Семьи, г. Пушкин
Коган И.Ю., д.м.н., профессор, Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, г. Санкт-Петербург
Тотолян Арег А., д.м.н., профессор, научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта РАМН, г. Санкт-Петербург

Role of immune factors in functioning of reproductive system of the woman

Motovilova N.O., Kogan I.Y., Totolian A. A.

Резюме

Представлены современные данные литературы о роли иммунных механизмов в регуляции ранних этапов репродуктивного процесса, связанных с созреванием ооцитов, доимплантационным эмбриогенезом, имплантацией эмбриона и развитием беременности. Подробно обсуждается участие различных типов иммунокомпетентных клеток и продуцируемых ими цитокинов в регуляции указанных процессов. В обзоре освещаются иммунологические аспекты патогенеза бесплодия, что может послужить основой для разработки прогностических критериев эффективности вспомогательных репродуктивных технологий. **Ключевые слова:** бесплодие, цитокины, экстракорпоральное оплодотворение

Summary

Modern data of literature on the role of immune mechanisms in the regulation of early stages of the reproductive process associated with the maturation of oocytes, pre-implantation embryogenesis, embryo implantation and development of pregnancy. Discussed in detail the involvement of different types of immune cells and cytokines produced by them in the regulation of these processes. The review highlights the immunological aspects of the pathogenesis of infertility, which may serve as a basis for the development of prognostic criteria for the effectiveness of assisted reproductive technologies.

Key words: infertility, cytokines, in vitro fertilization

В настоящее время бесплодие представляет собой важнейшую медико-социальную проблему большинства стран Европы и Северной Америки. В России частота бесплодия, по разным оценкам, составляет от 8 до 15% населения репродуктивного возраста (около 4–4,5 млн. супружеских пар), и в ряде регионов имеет тенденцию к увеличению. При бесплодии имеется крайне неблагоприятное сочетание социального, психического и, практически всегда, физического нездоровья в семье [1]. Практически всегда бесплодие является источником глубокого психологического стресса у женщины [5].

Современная стратегия при бесплодии является достаточно активной. Так, в руководстве ВОЗ по стандартизованному обследованию и диагностике бесплодных супружеских пар (1997 г.) сказано, что задачей врача, занимающегося бесплодием, является не упустить ничего важного и не делать ничего лишнего, что растягивало бы во времени и заводило бы в тупик процесс обследования,

стоило бы больше, чем нужно, материальных затрат. Поэтому врач должен использовать наиболее информативные методы исследования, позволяющие в максимально короткий период времени выявить причину бесплодия и выработать тактику ведения бесплодной пары [3].

Следует отметить, что по мере увеличения длительности лечения, возраста больных, а соответственно длительности бесплодия, эффективность его преодоления снижается. При отсутствии положительного эффекта от проводимого лечения в течение 2 лет, бесплодной паре целесообразно рекомендовать использование вспомогательных репродуктивных технологий. По данным многоцентровых исследований, средняя эффективность использования ВРТ на один лечебный цикл составляет 20–35%, что сопоставимо с показателями естественной фертильности человека.

Одним из основных научных достижений, позволивших решить проблему лечения бесплодия явилась расшифровка механизмов эндокринного контроля менструального цикла женщины, что позволило создать фундамент для внедрения в клиническую практику методов экстракорпорального оплодотворения (ЭКО).

В настоящее время показано, что нормальное развитие и функционирование репродуктивной системы осуществляются при тесном взаимодействии иммунной и

Ответственный за ведение переписки -
Мотовилова Наталья Олеговна,
196600 Санкт-Петербург,
ул. Магазейная, д. 72,
+7 (812) 451-7929,
motovilova-natal@mail.ru

эндокринной систем. Происходящие во время менструального цикла и беременности изменения контролируются со стороны гипоталамо-гипофизарной системы и являются прямым результатом индуцированного гормонами ремоделирования тканей яичника и слизистой матки. Действие гормонов на клеточном уровне реализуется через вовлечение множества пептидных ростовых факторов, среди которых особая роль отводится лимфопоэтическим цитокинам, продуцируемым иммунокомпетентными клетками [5, 6, 7]. Наиболее исследованы иммунологические аспекты, связанные с поддержанием и нормальным протеканием беременности. Вместе с тем роль иммунной системы в регуляции самых ранних этапов репродуктивного процесса – фолликулогенеза, овуляции, доимплантационных этапов развития эмбриона и его имплантации наименее изучена.

Одним из необходимых условий для оплодотворения и имплантации эмбриона является достижение определенного уровня зрелости ооцитов. За последние два десятилетия выяснилось, что созревание ооцитов происходит не только под воздействием гормонов, но и под контролем клеток иммунной системы [8, 9].

Согласно современным представлениям, присутствующие в тканях яичника клетки иммунной системы являются потенциальными модуляторами функций яичника и наряду с клетками гранулы и теки осуществляют свое регулирующее действие через продукцию цитокинов [10, 27].

Тесное взаимодействие клеток иммунной и репродуктивной систем в осуществлении контроля за овариальной функцией подтверждается рядом фактов.

Во-первых, иммуногистохимические и иммунологические исследования показали, что в тканях яичника и фолликулярной жидкости имеется достаточное количество различных типов лейкоцитов, некоторые из них подвержены существенным изменениям в различные фазы овариального цикла [10]. Так, в середине фолликулярной фазы в стенке фолликула и строме обнаруживаются макрофаги, небольшое количество нейтрофилов и Т-клетки, которые представлены преимущественно CD8 Т-лимфоцитами. При этом перед овуляцией количество макрофагов и нейтрофилов в тесе существенно возрастает. К моменту овуляции среди клеток фолликулярной жидкости обнаруживается от 5 до 15% макрофагов, а после овуляции значительное количество нейтрофилов обнаруживается в зоне разрыва фолликула. Впоследствии макрофаги и нейтрофилы выявляются в формирующемся желтом теле. Причем по мере старения желтого тела число макрофагов возрастает. Имеются также данные о наличии в желтом теле CD4 и CD8 Т-клеток в равных соотношениях. В-клетки и натуральные киллерные клетки (NK-клетки) в тканях фолликула обнаруживаются в низких количествах, и их уровень не меняется значительно во время овуляции.

Во-вторых, установлено, что иммунные клетки экспрессируют рецепторы к половым гормонам, лютеинизирующему гормону (ЛГ) и гонадотропин-рилизинг-гормону. Причем изменение концентрации цитокинов

носит циклический характер, и между уровнем половых гормонов и содержанием цитокинов выявляется взаимосвязь. Например, экспрессия мРНК IL-1 β в моноцитах периферической крови в лютеиновую фазу цикла в 3 раза выше, чем в фолликулярную фазу [11]. Аналогичным образом в зависимости от фазы менструального цикла меняется сывороточный уровень туморнекротизирующего фактора (TNF- α) и гранулоцитарно-макрофагального колонистимулирующего фактора (GM-CSF) [12]. Введение разрешающей дозы гормонов в пресовуляторный период сопровождается повышением в фолликулярной жидкости уровня таких цитокинов, как IL-8, MCP-1, LIF. Все эти факты указывают на то, что иммунные клетки являются мишенями действия гормонов. Причем, что интересно, циклические изменения гормонов приводят к изменению функций не только на местном, но и на системном уровне, что проявляется изменением концентрации сывороточных цитокинов или интенсивности их продукции циркулирующими лимфоцитами. В свою очередь продуцируемые цитокины влияют на выработку половых гормонов. Например, IL-1 и IL-6 стимулируют продукцию прогестерона [13], TNF- α индуцирует стероидогенез в клетках гранулы и теки [14].

В-третьих, нарушения иммунной системы сопряжены с дисфункциями репродуктивного процесса. Так, атимические, или постнатально тимэктомированные мыши инфертильны и имеют нарушения овариальной функции, однако введение спленоцитов или ткани тимуса восстанавливает у них овариальную функцию. Стимуляция овуляции с антагонистами гонадотропин-рилизинг-гормонов приводит к уменьшению количества лимфоцитов, снижению Т-клеточной пролиферации и массы тимуса. У женщин при нарушении продукции эстрогенов регистрируются повышенные количества CD8-лимфоцитов и низкий CD4/CD8 индекс [15].

Процесс овуляции сопряжен с разрывом здоровой ткани на поверхности яичника и происходит в присутствии каскада воспалительных медиаторов, включающих простагландины, лейкотриены, брадикинин, гистамин, фактор активации тромбоцитов и провоспалительные цитокины. С этой точки зрения разрыв овуляторного фолликула напоминает воспалительную реакцию, которая может инициироваться и опосредоваться с участием лейкоцитов [16].

Клетки иммунной системы принимают участие не только в регуляции фолликулогенеза и овуляции, но и в процессе формирования и регрессии желтого тела. Так, показано, что сразу после разрыва фолликула, а впоследствии при регрессии желтого тела в эту область мигрирует большое количество лейкоцитов [10]. Присутствующее в тканях желтого тела иммунокомпетентные клетки участвуют в регуляции стероидогенеза. На это указывают более чем двукратное усиление продукции прогестерона и снижение ответа на хорионический гонадотропин человека (чХГ) в культурах клеток желтого тела после удаления фракции лейкоцитов. Регрессия желтого тела также сопряжена с прогрессирующей инфильтрацией лимфоцитами и макрофагами, способными давать цитоток-

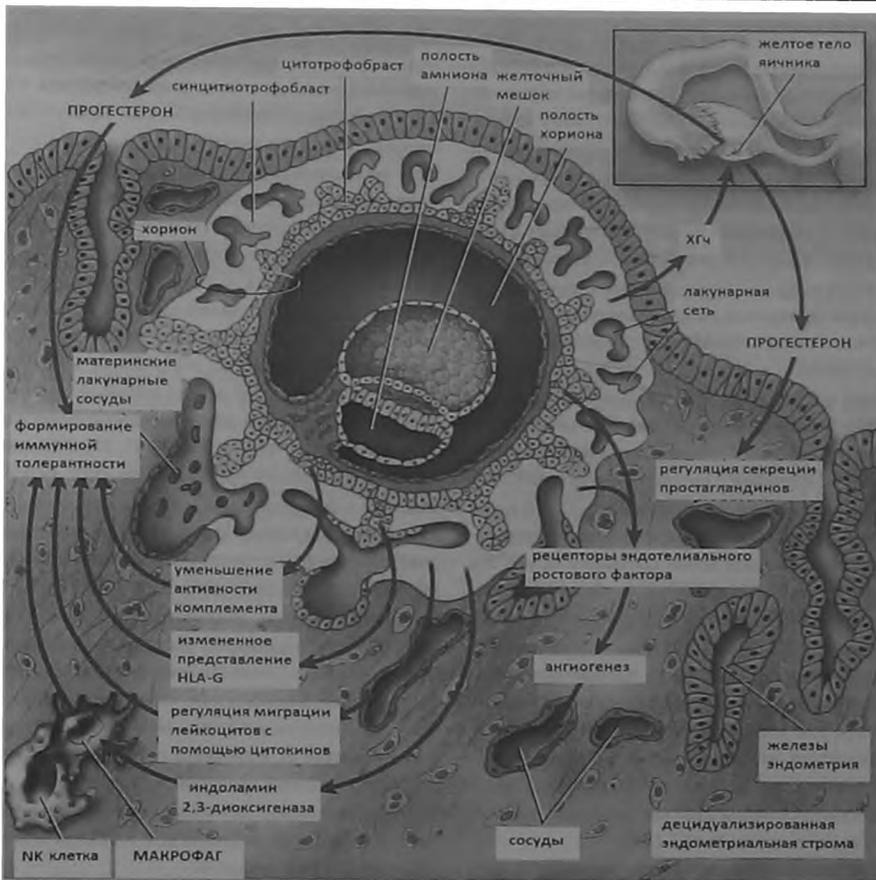


Рис.1. Функция иммунной на ранних сроках беременности

сический эффект. При этом подавление лютолиза сопровождается резким снижением численности макрофагов в желтом теле [17]. Регуляторную активность иммунокомпетентных клеток связывают с их паракринным влиянием на клетки гранулы и желтого тела, которое может опосредоваться через молекулы адгезии. В качестве комплементарных пар молекул обсуждается взаимодействие HLA-DR и LFA-3/CD58 молекул на клетках гранулы и желтого тела соответственно с CD4 и CD2 молекулами на Т-клетках [18]. Еще одной важной молекулой, через которую может медирироваться действие ИКК, является ICAM-1 (межклеточная молекула адгезии). Ряд цитокинов, таких как IL-1 β , TNF- α , интерферон- γ (IFN- γ), индуцируют экспрессию ICAM-1 на клетках гранулы и желтого тела и тем самым усиливают связывание этих клеток с лимфоцитами и моноцитами через молекулу LFA-1 [19]. Предполагается, что в случае имплантации взаимодействие Т-клеток с клетками желтого тела передает сигнал об ингибции лютолиза [18]. Таким образом, функции локализованных в яичнике клеток иммунной системы связывают с их способностью к продукции цитокинов и хемокинов, которые либо напрямую, либо через рекрутирование дополнительного количества различных типов иммунокомпетентных клеток участвуют в регуляции со-

зрелания фолликулов, овуляции, развития/атрофии желтого тела и стероидогенезе (рисунок 1). Широкий спектр биологической активности иммунокомпетентных клеток обусловлен способностью макрофагов и гранулоцитов к инициации и опосредованию воспалительной реакции, стимуляции неоангиогенеза, высокой активностью макрофагов к разрушению и ремоделированию внеклеточного матрикса, а также паракринным регулирующим влиянием Т-клеток и макрофагов на процессы выработки гормонов клетками желтого тела и лютолиз [20]. Важно отметить, что наряду с созреванием полноценного фолликула, его овуляцией и оплодотворением яйцеклетки эффективность наступления беременности во многом определяется успешной имплантацией эмбриона и его «приживлением». Имплантация эмбриона в полости матки представляет сложный многоступенчатый процесс и регулируется с вовлечением большого количества гуморальных факторов и разнообразных межклеточных и межмолекулярных взаимодействий. При физиологической беременности оплодотворенная яйцеклетка попадает в полость матки на стадии морулы, далее развивается в бластоцисту и имплантируется в эндометрий матки. У человека период, когда материнский эндометрий восприимчив к имплантации, получил название «транспланта-

ционного окна» и приходится на 7-й день после овуляции-оплодотворения. Во время фаз аппозиции и прикрепления на наружной мембране бластоцисты образуются микровыпячивания, способствующие тесному контакту с эндометрием матки. Последующая стадия инвазии трофобласта завершает процесс имплантации. Подготовка эндометрия к имплантации регулируется синтезируемыми в яичниках стероидами и «рецептивностью» к ним эндометрия [21]. В качестве локальных медиаторов действия стероидов выступают ростовые факторы и цитокины, источником продукции которых являются эпителиальные клетки, а также макрофаги и лимфоциты. Кроме того, локализованные в эндометрии лейкоциты являются ключевыми медиаторами ремоделирования ткани эндометрия [22]. Лимфоциты составляют 10—15% клеточного состава децидуальной ткани. Большинство из них представлено NK-клетками с высокой экспрессией CD56 молекул и отсутствием на мембране CD3 и CD16 антигенов. Данный тип клеток характерен именно для эндометрия и в периферической крови составляет менее 2% [23]. Рекрутирование NK-клеток происходит под действием хемокинов трофобласта и эндометрия. Взаимодействие децидуальных NK-клеток и неклассических аллоантигенов, экспрессированных на клетках трофобласта (HLA-G, HLA-E), рассматривается в качестве необходимого фактора для успешной имплантации и плацентации. Примечательно, что моноуклеарные клетки периферической крови в момент имплантации также обладают способностью усиливать инвазию эмбриона, причем эта активность потенцируется хХГ [24].

Развитие вспомогательных репродуктивных технологий позволило вплотную подойти к непосредственному изучению роли цитокинов в регуляции ранних этапов репродуктивного процесса у человека. По данным F. Burke и соавт., в яичниках экспрессируется 16 иммунорегуляторных цитокинов, среди которых идентифицированы IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-11, IFN- γ , TNF- α , LIF,

GM-CSF, TGF- β , MCP-1 [25]. Данные медиаторы могут оказывать местное действие на стероидогенез, пролиферацию гранулезных клеток, рост фолликулов и экспрессию рецепторов к гонадотропинам. Присутствие среди цитокинов фолликулярной жидкости большого количества провоспалительных цитокинов объясняется сходством основных физиологических механизмов развития овуляции и воспаления. Наличие цитокинов с противовоспалительной активностью может отражать процесс негативного контроля над выраженностью и продолжительностью воспалительной реакции. Помимо указанных групп цитокинов в фолликулярной жидкости идентифицированы цитокины, вовлеченные в индукцию ангиогенеза (сосудистый эндотелиальный ростовой фактор, VEGF), хемокины, обеспечивающие рекрутирование лейкоцитов (IL-8, MIP-1 α , MCP) [7, 27], цитокины, участвующие в имплантации эмбриона (LIF, EGF). Содержащиеся в фолликулярной жидкости цитокины включают также лимфокины. Поскольку в преовуляторном фолликуле человека аккумулируются Т-лимфоциты, они могут быть источником продукции IL-2, IL-12 и IL-13 [26].

Таким образом, учитывая тесную взаимосвязь иммунной и репродуктивной системы в регуляции овариальной функции, развитии эмбриона, его имплантации и сохранении беременности, становится очевидным тот факт, что наличие исходных иммунных дисфункций, а также развитие их в процессе стимуляции овуляции может быть серьезной причиной низкого качества ооцитов, дефекта оплодотворения яйцеклетки, нарушения развития и имплантации эмбриона и, в конечном итоге, отсутствия/потери беременности.

Исследование хемокинов (молекул-аттрактантов) в микроокружении половых клеток и в эндометрии, возможно, позволит выявить новые аспекты иммунной регуляции ранних этапов репродуктивного процесса и позволит разработать прогностические критерии эффективности лечения методом экстракорпорального оплодотворения. ■

Литература:

1. Шарапова О.В. письмо МЗ РФ 11 апреля 2003 г. N 2510/3797-03-32
2. Назаренко Т.А., Дуриня Э.Р., Чечурова Т.Н. Эндокринное бесплодие у женщин. Диагностика и лечение. М., 2004
3. Руководство ВОЗ по стандартизованному обследованию и диагностике бесплодных супружеских пар. М.: МЕДпресс, 1997
4. Кулаков В.И., Корнеева И.Е. Диагностика и лечение женского бесплодия. В кн.: Практическая гинекология. Под ред. В.И.Кулакова. М., 2002.
5. Al-Harthi L., Wright D.J., Anderson D. et al. The impact of the ovulatory cycle on cytokine production: evaluation of systemic, cervicovaginal and salivary compartments. *J Interferon & Cyt Res* 2000; 20: 8: 719—724.
6. Bornstein S.R., Rutkowski H., Vrezas I. Cytokines and steroidogenesis. *Mol Cell Endocrinol* 2004; 215: 1—2: 135—141.
7. Machelon V., Emilie D. Production of ovarian cytokines and their role in ovulation in the mammalian ovary. *Eur Cyt Network* 1997; 8: 137—143.
8. Buculmez O., Arici A. Leukocytes in ovarian function. *Hum Reprod* 2000; 6: 1—15.
9. Mori T. Immuno-endocrinology of cyclic ovarian function. *Am J Reprod Immunol* 1990; 23: 80—89.
10. Brannstrom M., Norman R.J. Involvement of leukocytes and cytokines in the ovulatory process and corpus luteum function. *Hum Reprod* 1993; 8: 1762—1775.
11. Polan M.L., Loukides J.A., Honig J. Interleukin-1 in human ovarian cells and in peripheral blood monocytes increases during the luteal phase: evidence for a midcycle surge in the human. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 170: 1000—1006.
12. Norman R.J., Brannstrom M. Cytokines in the ovary: pathophysiology and potential for pharmacological

- intervention. *Pharmacol Ther* 1996; 69: 219—227.
13. Miceli F., Tropea A., Minici F. et al. Interleukin-1b stimulates progesterone production by in vitro human luteal cells: evidence of a mediatory role of prostaglandins. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 6: 2690—2694.
 14. Cianci A., Calogero A.E., Palumbo M.A. et al. Relationship between TNF- α and sex steroid concentrations in the follicular fluid of women with immunological infertility. *Hum Reprod* 1996; 11: 256—258.
 15. Ho P.C., Tang G.W., Lawton J.W.M. Lymphocytes subsets in patients with oestrogen deficiency. *J Reprod Immunol* 1991; 20: 85—91.
 16. Espey L.L. Current status of the hypothesis that mammalian ovulation is comparable to an inflammatory reaction. *Biol Reprod* 1994; 50: 233—238.
 17. Duncan W.C., Rodger F.E., Illingworth P.J. The human corpus luteum: reduction in macrophages during stimulated maternal recognition of pregnancy. *Hum Reprod* 1998; 13: 2435—2442.
 18. Hattori N., Ueda M., Fujiwara H. et al. Human luteal cells express leukocyte functional antigen (LFA)-3. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 78—84.
 19. Vigano P., Gaffuri B., Ragni G. et al. Intercellular adhesion molecule-1 is expressed on human granulosa cells and mediates their binding to lymphoid cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 101—105.
 20. Wu R., Van der Hoek K.H., Ryan N.K. et al. Macrophage contributions to ovarian function. *Hum Reprod Update* 2004; 10: 2: 119—133.
 21. Klentzeris L.D. The role of endometrium in implantation. *Hum Reprod* 1997; 12: 170—175.
 22. Hannan N.J., Jones R.L., Critchley H.O.D. et al. Co-expression of fractalkine and its receptor in normal human endometrium and in endometrium from users of progestin-only contraception supports a role for fractalkine in leukocyte recruitment and endometrial remodeling. *J Clin Endocrin Metab* 2004; 89: 6119—6129.
 23. Kammerer U., Marzusch K., Krober S. et al. A subset of CD56+ large granular lymphocytes in first-trimester human decidua are proliferating cells. *Fertil Steril* 1998; 71: 74—79.
 24. Nakayama T., Fujiwara H., Maeda M. et al. Human peripheral blood mononuclear cells (PBMC) in early pregnancy promote embryo invasion in vitro: HCG enhances the effects of PBMC. *Hum Reprod* 2002; 17: 1: 207—212.
 25. Burke F., Relf M., Negus R., Balkwill F.A. Cytokine profile of normal and malignant ovary. *Cytokine* 1996; 8: 579—585.
 26. Gallinelli A., Ciaccio I., Gianella L. Correlation between concentrations of IL-12 and IL-13 and lymphocyte subsets in the follicular fluid of women with and without polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2003; 79: 1365—1372.
 27. Хонина Н.А., Айзикович И.В., Шевела Е.Я. и др. Регуляторные факторы и цитокины в сыворотке и фолликулярной жидкости у женщин при контролируемой овариальной гиперстимуляции. *Цитокины и воспаление* 2005; 4: 2: 38—44