

Роль клеточно-опосредованных и цитокин-зависимых механизмов поддержания иммунологической толерантности в ранние сроки беременности

Газиева И.А. — к.б.н., с.н.с. отделения иммунологии и микробиологии ФГУ «НИИ ОММ Росмедтехнологий», г. Екатеринбург

Чистякова Г.Н. — д.м.н., руководитель отделения иммунологии и микробиологии ФГУ «НИИ ОММ Росмедтехнологий», г. Екатеринбург

Ремизова И.И. — к.б.н., и.о. с.н.с. отделения экологической репродуктологии ФГУ «НИИ ОММ Росмедтехнологий», г. Екатеринбург

Тарасова М.Н. — к.б.н., и.о. н.с. отделения иммунологии и микробиологии ФГУ «НИИ ОММ Росмедтехнологий», г. Екатеринбург

Role of cell-mediated and cytokine-dependent mechanisms of maintenance of immunological tolerance in early pregnancy

Gazieva I.A., Chistjakova G.N., Remisova I.I., Tarasova M.N.

Резюме

Целью работы явилась оценка особенностей дифференцировки лимфоцитов и продукции медиаторов межклеточного взаимодействия при беременности, осложненной угрозой прерывания в ранние сроки. Проанализированы результаты обследования 54 женщин в ранние сроки беременности (4-12 недель). Основную группу составили 22 женщины, беременность которых осложнилась угрозой прерывания по данным ультразвукового исследования, группу сравнения составили 32 женщины с неосложненным течением данного периода гестации. Иммунофенотипирование лимфоцитов периферической крови проводили методом проточной лазерной цитофлуориметрии, содержание цитокинов IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IFN- γ TNF- α в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета прикладных программ "Statistica 6.0", проверку статистических гипотез осуществляли с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни. Полученные данные свидетельствуют о нарушении механизмов иммунологической толерантности при беременности, осложненной угрозой прерывания в ранние сроки. Выявлена недостаточная супрессорная реорганизации иммунной системы (уменьшение содержания естественных регуляторных CD4+CD25+ клеток на фоне сниженной концентрации IL-2), повышенный уровень экспрессии молекул адгезии ICAM-1 и PECAM-1, усиливающих сродство лейкоцитов с эндотелиальными клетками, преобладание Th1-типа иммунного ответа (повышение уровня IFN- γ и снижение концентрации IL-4), и, в целом, провоспалительная направленность иммунных реакций (повышение содержания провоспалительных цитокинов IL-6 и IL-8), обуславливающая гиперкоагуляционные сдвиги в системе гемостаза и повышающая риск тромботических осложнений. **Ключевые слова:** угроза прерывания беременности; иммунологическая толерантность, регуляторные T-клетки, молекулы адгезии; цитокины.

Summary

The aim of the research: to estimate features of differentiation of lymphocyte and mediators of intercellular interaction production by early pregnancy complicated of treat of miscarriage. Totally 54 women in early pregnancy (4-12 week) were examined. The main group consisted of 22 women with treat of miscarriage indicated by ultrasonography, the comparison group contained of 32 women with physiological pregnancy in these terms. Immunophenotyping of lymphocyte of peripheral blood was made by flow cytometry. The level of cytokines IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α , IFN- γ in blood serum was determined by the enzyme-linked immunosorbent assay. Statistical data analysis was carried by "Statistica 6.0" package, the reliability of distinctions between groups was estimated by nonparametric U-Mann-Whitney criterion. It has been found impair of mechanisms of immunological tolerance in early pregnancy complicated of treat of miscarriage: the defective suppressor reorganization of immune system (decrease of number of natural regulatory CD4+CD25+ T-cells along with decreased concentration of IL-2), increase expression level of adhesion molecules ICAM-1 and PECAM-1, which increase endothelium and leukocyte adhesiveness, prevalence of Th1-type immune response (on the basis of increase of level of IFN- γ and decrease of concentration of IL-4), and integrally proinflammatory immune reaction (increase of a serum level of proinflammatory cytokines IL-6 and IL-8), determined hypercoagulation changes in hemostasis and increased the risk of thrombotic complications.

Key words: treat of miscarriage; immunological tolerance; regulatory T-cells; adhesion molecules; cytokines.

Введение

Физиологическое развитие беременности обеспечивается реализацией сложного комплекса взаимодействий плода и плацентарных оболочек с тканями репродуктивного тракта, эндокринной и иммунной системами матери, при этом взаимное влияние плаценты и иммунной системы материнского организма нельзя свести к подавлению иммунного ответа. Более того, для успешного прогрессирования беременности необходим запуск регуляторных механизмов, обычно управляющих реакциями воспаления и, в то же время обеспечивающих иммунологическую толерантность в физиологических условиях [1, 2, 3].

По современным представлениям, иммунологические взаимоотношения между организмами матери и плода являются двусторонним коммуникационным процессом, определенным, с одной стороны, презентацией фетальных антигенов, а с другой – распознаванием и реагированием на эти антигены материнской иммунной системы. На сегодняшний день является общепризнанным, что иммунологическое распознавание беременности представляет собой важный момент для дальнейшего успешного прогрессирования гестации, а неадекватное узнавание антигенов плода может приводить к репродуктивным потерям [4, 5, 6]. Анализ закономерностей регуляции при физиологической беременности позволит подойти к решению многих задач, связанных в том числе и с выявлением иммунопатогенетических аспектов формирования гестационных осложнений.

Исследования последних лет показали, что беременность представляет собой феномен активации иммунной системы, запускающий особый каскад реакций, регулирующих формирование фетоплацентарного комплекса. Важными механизмами иммунорегуляции, лимитирующими переход активации в гиперактивацию и иммунологическую агрессию в отношении антигенных детерминант плодового происхождения, является определенный цитокиновый баланс, индукция дифференцировки и накопления регуляторных Т-клеток, активация апоптоза активированных клеток и др. Успешное прогрессирование беременности во многом зависит от синхронности обмена сигнальными молекулами между матерью и эмбрионом в ходе “диалога”, который характеризуется интенсивными молекулярными взаимодействиями между клетками и тканями и экспрессией эффекторных молекул, факторов роста и цитокинов, осуществляющих паракринную, аутокринную и интракринную регуляцию столь сложного процесса. Межмолекулярные взаимодействия модулируют как дальнейшее развитие бластоцисты, так и распознавание беременности и адаптацию к ней организма матери [4, 5, 7].

Одной из причин формирования угрозы прерывания в ранние сроки беременности является неадекватное распознавание антигенных детерминант плодового происхождения материнской иммунной системой. Это приводит к неполноценной инвазии цитотрофобласта, что является морфологическим субстратом развития плацентарной недостаточности – ведущего фактора формирования перинатальной патологии – в более поздние сроки гестации. Причины нарушения клеточных и цитокиноопосредованных механизмов, обеспечивающих физиологическое течение беременности, остаются в стадии изучения, что и определило цель настоящего исследования.

Цель: оценить особенности дифференцировки лимфоцитов и продукции медиаторов межклеточного взаимодействия при беременности, осложненной угрозой прерывания в ранние сроки.

Материалы и методы

Проведено клинико-лабораторное обследование 54 женщин в ранние сроки беременности (4-12 недель). Основную группу составили 22 женщины, беременность которых осложнилась угрозой прерывания, в группу сравнения вошли 32 женщины с неосложненным течением данного периода гестации. Угрозу прерывания констатировали по данным ультразвукового исследования (повышенный тонус матки). Иммунофенотипирование лимфоцитов периферической крови проводили методом проточной цитофлюориметрии на анализаторе “FACS Calibur” фирмы “Becton Dickinson” (США) с использованием моноклональных антител того же производителя. Содержание цитокинов IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IFN- γ , TNF- α , в сыворотке крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с помощью реагентов фирмы «Biosource» (Бельгия), согласно рекомендациям производителей. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета прикладных программ “Statistica 6.0”, проверку статистических гипотез осуществляли с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни.

Результаты и их обсуждение

Определение поверхностного фенотипа лимфоцитов периферической крови показало, что у женщин, беременность которых осложнилась угрозой прерывания с ранних сроков, отмечается нарушение клеточно-опосредованных и цитокин-опосредованных механизмов поддержания иммунологической толерантности в отношении развивающегося плода. Как относительная, так и абсолютная численность лимфоцитов, несущих рецептор к IL-2, снижалась практически в 2 раза в сравнении с аналогичными показателями при физиологически протекающей беременности (таблица 1). Экспрессия генов факторов роста и их рецепторов, в том числе молекулы CD25 (низкоаффинного рецептора к IL-2) является результатом перехода клеток в активированное состояние для осуществления эффекторных функций. В физиологических условиях процессы имплантации и плацентации сопровождаются выраженной активацией иммунокомпетент-

Таблица 1. Экспрессия маркеров активации и молекул адгезии лимфоцитами периферической крови в ранние сроки беременности, осложненной угрозой прерывания ($M \pm \sigma$)

Показатель	Физиологическая беременность (n=32)	Беременность, осложненная угрозой прерывания (n=22)	Уровень значимости различий между группами р
CD25 %	8,91 $\pm$ 5,71	4,67 $\pm$ 1,61	0,008
10 ⁹ /л	0,23 $\pm$ 0,17	0,12 $\pm$ 0,06	0,016
CD4CD25 %	6,72 $\pm$ 4,78	3,25 $\pm$ 1,29	0,009
10 ⁹ /л	0,17 $\pm$ 0,14	0,08 $\pm$ 0,05	0,021
CD71 %	14,69 $\pm$ 12,94	13,08 $\pm$ 10,51	0,35
10 ⁹ /л	0,38 $\pm$ 0,4	0,30 $\pm$ 0,16	0,257
CD54 %	38,53 $\pm$ 10,27	44,83 $\pm$ 11,18	0,041
10 ⁹ /л	0,96 $\pm$ 0,47	1,11 $\pm$ 0,41	0,178
CD3CD54 %	13,19 $\pm$ 6,90	15,0 $\pm$ 7,83	0,23
10 ⁹ /л	0,31 $\pm$ 0,17	0,37 $\pm$ 0,20	0,149
CD11b %	22,38 $\pm$ 8,26	18,25 $\pm$ 4,97	0,058
10 ⁹ /л	0,60 $\pm$ 0,48	0,49 $\pm$ 0,23	0,211
CD3CD11b %	4,94 $\pm$ 5,66	3,42 $\pm$ 2,43	0,19
10 ⁹ /л	0,13 $\pm$ 0,17	0,09 $\pm$ 0,08	0,20
CD11c %	20,88 $\pm$ 5,39	21,42 $\pm$ 4,06	0,38
10 ⁹ /л	0,54 $\pm$ 0,35	0,54 $\pm$ 0,21	0,49
CD3CD11c %	3,56 $\pm$ 2,58	3,67 $\pm$ 1,83	0,45
10 ⁹ /л	0,09 $\pm$ 0,07	0,09 $\pm$ 0,04	0,46
CD31 %	49,66 $\pm$ 9,48	55,91 $\pm$ 13,54	0,052
10 ⁹ /л	1,31 $\pm$ 0,82	1,43 $\pm$ 0,66	0,338
CD95 %	16,97 $\pm$ 6,69	13,33 $\pm$ 7,97	0,057
10 ⁹ /л	0,46 $\pm$ 0,41	0,31 $\pm$ 0,19	0,127

ных клеток материнского организма. Одной из причин угрозы прерывания беременности в ранние сроки может являться слабая иммуностимуляция, при которой имеет место недостаточное распознавание иммунной системой матери аллоантигенов плода, препятствующее выработке "блокирующих" антител, способствующих благоприятному прогрессированию гестации.

Анализ результатов иммунофенотипирования лимфоцитов выявил снижение относительного и абсолютного содержания CD4+CD25+-T-клеток в 2,1 раза в сравнении с аналогичными показателями при физиологически протекающей беременности. Компартмент естественных регуляторных T-клеток с супрессорной активностью (CD4+CD25+-Treg) имеет важное значение в индукции и поддержании толерантности к аллоантигенам плода. Начиная с первого триместра физиологической беременности происходит увеличение количества регуляторных T-клеток. CD4+CD25+-Treg обладают способностью подавлять продукцию IFN- γ в ответ на специфические отцовские антигены, максимум их содержания приходится на второй триместр беременности, а к родам количество клеток этого типа снижается до уровня небеременных женщин (около 5%). Treg могут подавлять активность NKT- и NK-клеток в интерфазе мать-плод. По данным литературы, развитие осложнений беременности сопровождается снижением количества CD4+CD25+-клеток в периферической крови [2, 7, 8]. В экспериментах на животных дефицит Treg-клеток ассоциируется с очень ранними постимплантационными потерями, а у человека – со спонтанными выкидышами [9]. Полученные нами

данные свидетельствуют о том, что при угрозе прерывания в ранние сроки беременности нарушается механизм поддержания фетальной толерантности, заключающийся в адекватном распознавании антигенов плода иммунной системой материнского организма.

Важное значение в реализации супрессорного потенциала Treg имеет экспрессия на их поверхности ингибитора костимуляции CTLA-4, который способен снижать степень адгезии к антигенпрезентирующим клеткам за счет модуляции экспрессии молекул межклеточного взаимодействия, в частности, ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1 или CD54) [9]. Молекулы межклеточной адгезии представляют собой связанные с плазматической мембраной белки, которые обеспечивают механическое взаимодействие клеток по принципу лиганд-рецепторного соединения. С их помощью клетки могут контактировать друг с другом или перемещаться по внеклеточному матриксу. Молекулы адгезии обеспечивают процессы прикрепления лейкоцитов друг к другу, в том числе к антигенпрезентирующим клеткам, сосудистому эндотелию и экстрацеллюлярному матриксу, трансмиграции через эндотелий, а также реализацию хоминг-эффекта [10, 11, 12]. Активированные лимфоциты экспрессируют на своей поверхности адгезивный рецептор CD54, в меньшей степени на этих клетках представлены интегрины CD11b и CD11c.

ICAM-1 является лигандом для β 2-интегринов и служит важным звеном лейкоцитарно-эндотелиальных взаимодействий, позволяя лейкоцитам узнавать соответствующие участки поверхности эндотелиальных клеток.

Основная функция ICAM-1 заключается в обеспечении адгезии нейтрофилов, моноцитов и лимфоцитов к активированному сосудистому эндотелию с последующей их миграцией в ткани. Однако роль молекул адгезии не ограничивается только формированием контакта эндотелиальных клеток с лейкоцитами. Эти молекулы могут принимать непосредственное участие в регуляции воспалительного ответа. Так, ICAM-1 участвует во внутриклеточной передаче сигнала, обеспечивая активацию как лейкоцитов, так и эндотелиоцитов. Циркуляция повышенного количества активированных клеток в системном русле способствует процессам активного взаимодействия лейкоцитов с внутренней выстилкой сосудов, длительной стимуляции эндотелия, что может приводить к его гиперактивации с формированием эндотелиальной дисфункции. Тем самым повышенный уровень ICAM-1 способствует увеличению риска вазоспазма [13].

Относительное содержание лимфоцитов, экспрессирующих маркер CD54, повышалось при беременности, осложненной угрозой прерывания, на 16,4%. Абсолютная численность лимфоцитов, экспрессирующих ICAM-1, изменялась в общем пуле лимфоцитов и в популяции Т-клеток незначительно, обнаруживая лишь тенденцию к повышению по сравнению с аналогичными показателями в группе здоровых беременных женщин. Наряду с увеличением численности клеток, экспрессирующих CD54, было выявлено повышение относительного содержания лимфоцитов, несущих на своей поверхности тромбоцитарно-эндотелиальную молекулу клеточной адгезии типа I (platelet endothelial cell adhesion molecule-1/PECAM-1 или CD31). Данный рецептор конститутивно экспрессируется на эндотелии, тромбоцитах, Т-лимфоцитах, нейтрофилах и моноцитах. Функцией PECAM-1 является адгезия лейкоцитов, тромбоцитов и опухолевых клеток к сосудистому эндотелию. Опосредованная CD31 адгезия лейкоцита к эндотелию "включает" внутриклеточную передачу сигнала, вызывающего усиление адгезии благодаря вовлечению интегринов лейкоцитов. Молекулы адгезии PECAM-1, экспрессируемые как иммунокомпетентными клетками, так и эндотелием, обеспечивают диапедез и приток лейкоцитов в зону воспаления. Дискутируется участие молекулы в переходе из наивных в клетки памяти и в регуляции хелперной функции CD4 клеток [14]. Таким образом, в ранние сроки осложненной беременности отмечается увеличение доли лимфоцитов, экспрессирующих ключевые рецепторы межклеточного взаимодействия, что свидетельствует о нарушении иммунологической регуляции и информационного обмена на уровне межклеточной кооперации. Повышение уровня экспрессии ICAM-1 и PECAM-1 может обуславливать избыточное связывание эффекторных клеток с антигенпрезентирующими клетками и эндотелиоцитами, и являться дополнительным фактором развития микроциркуляторных и гемодинамических нарушений.

Переход клетки в состояние активации сопровождается запуском продукции цитокинов и их рецепторов и определяет срок жизни клетки. При этом молекулы адгезии, экспрессируемые лимфоцитами, наряду с усилением

процессов межклеточной кооперации, способны генерировать дополнительный активационный сигнал. Регуляция срока жизни клеточного клона осуществляется, с одной стороны, за счет обеспечения устойчивости клеток к апоптозу после активации, а с другой – за счет запуска экспрессии генов, необходимых для реализации апоптоза к моменту завершения иммунного ответа. Одним из механизмов, обеспечивающих иммунологическую толерантность, является способность клеток трофобласта индуцировать апоптоз активированных, потенциально опасных для плода Т-лимфоцитов по Fas-зависимому пути. Fas-индуцированный апоптоз иммунокомпетентных клеток играет важную роль в регуляции иммунного ответа при беременности и при развитии ее осложнений. Программированная гибель активированных лимфоцитов, взаимодействующих с клетками трофобласта, может вносить вклад в ограничение нежелательных иммунологических реакций в отношении плода и предотвращение иммунного конфликта между двумя генетически различающимися организмами. По данным зарубежных и отечественных авторов, в начальный период физиологической беременности происходит активация апоптоза активированных Т-клеток. В нашем исследовании оценка уровня экспрессии маркера готовности к апоптозу CD95 показала, что при беременности, осложненной угрозой прерывания, наблюдалась выраженная тенденция к снижению относительного и абсолютного содержания CD95+-лимфоцитов. Длительно циркулирующие в кровотоке активированные клетки могут обуславливать воспалительную трансформацию микроциркуляции, в связи с чем индукция сигнала к запуску апоптоза клеток, реализовавших свою функцию и исчерпавших эффекторный потенциал, является одним из механизмов, предупреждающих развитие воспалительной реакции и связанного с ней повреждения тканей. Полученные данные свидетельствуют о том, что при угрозе прерывания беременности в раннем сроке нарушена элиминация активированных клонов лимфоцитов, потенциально опасных для развивающегося плода.

Продукция цитокинов мононуклеарными клетками периферической крови отражает функциональное состояние эффекторного звена иммунной системы. Цитокины образуют самостоятельную систему регуляции основных функций организма, связанную в первую очередь с поддержанием гомеостаза в норме и при патологических процессах. Физиологическая беременность характеризуется угнетением материнского клеточного иммунного ответа и преобладанием Th2-зависимого ответа, опосредованного регуляторными цитокинами. Однако во время имплантации происходит кратковременное усиление продукции Th1-цитокинов. В случае дальнейшего преобладания цитокинов Th1-типа имеет место ограничение инвазии трофобласта, обуславливающее в дальнейшем различные осложнения беременности. Ключевыми цитокинами, продуцируемыми Th1-клетками, являются TNF- α , IFN- γ и IL-2 – факторы, необходимые для индукции воспаления, уничтожения трансформированных и инфицированных вирусами клеток, отторжения чужеродной тка-

ни. В то же время IL-2 представляет собой основной ростовой фактор Т-клеток и является одним из важнейших медиаторов, который необходим не только для активации, дифференцировки и пролиферации Т-клеток, но и для нормального течения процессов, связанных с плацентацией, поскольку участвует в созревании и функционировании клеток трофобласта. Так, показано, что Treg способны пролиферировать в ответ на стимулирующие антигены только в присутствии IL-2 и при активации подавляя пролиферацию эффекторных и цитотоксических Т-клеток, а также NK-клеток и В-лимфоцитов [9, 15, 16].

Для реализации действия факторов роста, как и других соединений, обладающих регулирующим действием, необходимо связывание их со специфическими рецепторами. Модификация экспрессии и структурной конформации рецепторов, как и самих факторов роста, влияет на скорость и направленность регулируемых ими процессов, в том числе на формирование иммунологической толерантности материнской иммунной системы к антигенам плода. Анализ полученных данных показал, что содержание IL-2, одного из важнейших эндогенных иммуномодуляторов, направляющих активированную клетку по пути пролиферации, снижалось в основной группе в 1,3 раза по сравнению с уровнем данного цитокина при неосложненной беременности (таблица 2). Полученные данные свидетельствуют о том, что в ранние сроки беременности, осложненной угрозой прерывания, страдает регуляция выработки ростового фактора лимфоцитов IL-2, что может обуславливать угнетение пролиферации регуляторных CD4+CD25+ Т-клеток и нарушение механизмов иммунологической толерантности к антигенам плодового происхождения. Кроме того, IL-2 играет ключевую роль в апоптозе CD4+ лимфоцитов в ответ на антигенную рестимуляцию, что имеет важное значение в элиминации аутореактивных Т-клеток. Снижение уровня IL-2 в циркуляции может приводить к нарушению механизмов сигнальной трансдукции, которое выражается в угнетении процессов дифференцировки Т-клеток. Одинаковая направленность изменений количества клеток, экспрессирующих рецептор к IL-2 (CD4+CD25+) и уровня IL-2 свидетельствует о функциональной сопряженно-

сти и синергичном участии клеточных и цитокиноопосредованных механизмов в нарушении иммунорегуляции при патологически протекающей беременности.

На сегодняшний день является общепризнанным, что прерыванию беременности в раннем сроке может способствовать нарушение процессов инвазии трофобласта и плацентации, связанное с гиперпродукцией ангиостатиков и недостаточной выработкой гемопозитических факторов роста, а также с неадекватной активацией эндотелия, вызывающей дисбаланс вазоконстрикторов и вазодилататоров, и способствующей патогенетическим сдвигам в системе гемостаза [17, 18, 19, 20]. Функциональное состояние эндотелия находится под постоянным контролем стимуляторов и ингибиторов образования сосудов, которые при нормальных условиях взаимно уравновешивают друг друга. Цитокины также относятся к регуляторам ангиогенеза, при этом одни медиаторы стимулируют образование новых сосудов, а другие – ингибируют этот процесс. Наряду с этим содержание цитокинов в сыворотке крови отражает функциональное состояние иммунной системы в целом и основных продуцентов того или иного фактора. Определение особенностей продукции цитокинов показало, что угроза прерывания беременности в ранние сроки сопровождалась изменением концентрации как провоспалительных, так и иммунорегуляторных медиаторов. В основной группе женщин выявлена выраженная активация синтеза провоспалительных цитокинов: IL-6, IL-8, IFN- γ . Уровень IL-6 повышался в 2,9 раза, концентрация другого классического провоспалительного цитокина и хемоаттрактанта IL-8 – в 2,5 раза, а продукция IFN- γ – в 10,8 раз в сравнении с аналогичными показателями при физиологически протекающей беременности.

Наиболее выраженные изменения имели место в содержании интерферона. Избыточная продукция интерферонов угнетает секрецию факторов, необходимых для роста и дифференцировки трофобласта [21, 22]. IFN- γ обладает выраженными ангиостатическими свойствами, оказывая как прямое антипролиферативное действие, так и опосредованное через угнетение пролиферации эндотелиальных клеток, стимулированных фактором ро-

Таблица 2. Содержание сывороточных медиаторов межклеточного взаимодействия в ранние сроки беременности, осложненной угрозой прерывания ($M \pm \sigma$)

Показатель	Физиологическая беременность (n=32)	Беременность, осложненная угрозой прерывания (n=22)	Уровень значимости различий между группами р
Провоспалительные			
IL-2, пг/мл	348,92 $\pm$ 37,06	278,26 $\pm$ 45,3	0,015
IL-1 β , пг/мл	284,79 $\pm$ 138,46	344,1 $\pm$ 146,7	0,334
IL-6, пг/мл	10,95 $\pm$ 8,93	31,32 $\pm$ 23,78	0,038
IL-8, пг/мл	17,83 $\pm$ 8,51	44,97 $\pm$ 31,94	0,042
TNF- α , пг/мл	38,62 $\pm$ 11,56	44,57 $\pm$ 15,21	0,217
IFN- γ , пг/мл	11,86 $\pm$ 15,08	127,6 $\pm$ 103,42	0,003
Иммунорегуляторные			
IL-4, пг/мл	60,94 $\pm$ 13,62	45,69 $\pm$ 20,79	0,014
IL-10, пг/мл	22,23 $\pm$ 4,03	7,32 $\pm$ 2,85	0,035

ста фибробластов и тромбоцитарным фактором роста. IFN- γ может непосредственно ингибировать пролиферацию трофобласта и одновременно подавлять продукцию гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора, являющегося ростовым фактором трофобласта. Кроме того, IFN- γ стимулирует NK-клетки и цитотоксические Т-лимфоциты, формируя лимфоки-активированные клетки-киллеры, обладающие потенциальной способностью повреждать трофобласт. Высокие концентрации IFN- γ инициируют агрегацию тромбоцитов, вплоть до развития тромбоцитопении, несмотря на отсутствие на этих клетках интерферонсвязывающих рецепторов: этот цитокин выраженно активирует продукцию тромбоксанов у лейкоцитов, клеток ретикуло-эндотелиальной системы и эндотелиоцитов. Таким образом, усиленная продукция IFN- γ при патологически протекающей беременности свидетельствует об активации материнских Th1, опосредующих наиболее опасный для плода клеточный иммунный ответ, и повышает риск развития тромботических осложнений.

Интерлейкин-6 является одним из основных регуляторов выраженности и продолжительности иммунного ответа, в том числе синтеза белков острой фазы. Хемоаттракционный цитокин IL-8 продуцируется иммунокомпетентными клетками и эндотелием в ответ на антигенную стимуляцию и активацию цитокиновой сети, индуцируя в свою очередь экспрессию молекул адгезии, способных осуществлять взаимодействие лейкоцитов и эндотелиальных клеток. Гиперпродукция провоспалительных цитокинов индуцируют активацию клеток внутренней выстилки сосудов, которые в условиях длительной стимуляции сами синтезируют ряд провоспалительных цитокинов, выступая, таким образом, не только клетками-мишенями, но и эффекторами, поддерживающими воспалительную направленность иммунного реагирования.

Важную роль в успешном прогрессировании беременности играют цитокины с иммуносупрессивными свойствами: TGF- β , IL-4, IL-10. В физиологических условиях гормоны и другие растворимые продукты плаценты, обладающие иммуномодулирующими свойствами, избирательно активируют продукцию Т-клетками IL-4, внося свой вклад в сдвиг цитокинового профиля в пользу Th2, а также стимулируют продукцию лимфоцитами прогестерониндуцируемого блокирующего фактора, существенно подавляющего активность NK-клеток. В соответствии с полученными нами данными, угроза прерывания беременности в ранние сроки сопровождалась односторонним изменением уровня иммунорегуляторных цитокинов: снижением концентрации IL-4 и IL-10 в 1,3 и 3 раза соответственно в сравнении с аналогичными показателями в группе здоровых беременных женщин.

Результаты проведенного исследования подтверждают антагонистическое взаимовлияние Th1 и Th2: IFN- γ , продуцируемый Th1, очевидно, подавляет созревание Th2 и продукцию Th2-цитокинов IL-4 и IL-10. Таким образом, повышенная выработка IFN- γ при угрозе прерывания беременности препятствует смещению системного иммунного ответа в сторону Th2-доминирования, осла-

бляя и подавляя продукцию иммунорегуляторных медиаторов и повышая риск неблагоприятных клеточноопосредованных реакций материнского организма в отношении плода. Снижение уровня IL-4 и IL-10 на фоне избыточной продукции провоспалительных медиаторов в ранних сроках является неблагоприятным прогностическим фактором для дальнейшего успешного прогрессирования беременности.

Анализ проведенных исследований показал, что первый триместр беременности, осложнившейся угрозой прерывания, характеризуется усиленной выработкой IFN- γ , который обладает выраженными ангиостатическими свойствами. Усиление продукции провоспалительных цитокинов IL-6, IL-8, и IFN- γ на фоне снижения уровня цитокинов противовоспалительного действия IL-4 и IL-10 позволяет заключить, что данное патологическое состояние сопровождается нарушением запуска фетопротективных механизмов, модулирующих переключение иммунной системы материнского организма с Th1 на Th2-зависимый иммунный ответ.

Полученные данные свидетельствуют о выраженной активации системы провоспалительных цитокинов при беременности, осложненной угрозой прерывания. Нарушение механизмов иммунологической регуляции этих процессов может приводить к воспалительной трансформации микроциркуляции, обуславливающей гемодинамические сдвиги, повышающие риск тромботических осложнений. Угроза прерывания беременности в первом триместре сопровождается увеличением уровня ингибиторов ранних этапов ангиогенеза. Таким образом, риск невынашивания беременности в ранних сроках связан не только с переключением на иммунный ответ Th1-типа, но и с гиперпродукцией интерферонов и недостаточной выработкой гемопозитических факторов роста и рецепторов к ним. Это может свидетельствовать о том, что в нарушении регуляции становления гемодинамической системы фетоплацентарного комплекса большое значение может иметь избыточная продукция факторов, сдерживающих процессы роста сосудов. Данные изменения способны обуславливать нарушение процессов микроциркуляции и, в итоге, вазоконстрикцию.

Полученные данные позволяют констатировать состояние гиперактивации клеток врожденного и приобретенного иммунитета в ранние сроки патологически протекающей беременности, о котором свидетельствует увеличение в сыворотке крови уровня провоспалительных цитокинов IL-6, IL-8, IFN- γ . Одним из биологических эффектов цитокинов является способность стимулировать адгезивность клеток иммунной системы и эндотелия. Экспрессия молекул адгезии является одним из признаков активации иммунокомпетентных клеток, в то же время сами молекулы межклеточной адгезии оказывают выраженное влияние на продукцию ряда цитокинов, регулируя функциональное состояние лейкоцитов путем усиления взаимодействия этих клеток с эндотелием. Активированные лейкоциты способны инициировать активацию эндотелиальных клеток в любой точке кровеносного русла. В свою очередь активация эндотелиальных кле-

ток сопровождается секрецией хемокинов и других провоспалительных цитокинов, обеспечивающих аутокринную и паракринную стимуляцию эндотелия и лейкоцитов, а также экспрессией молекул, способствующих адгезии лейкоцитов к эндотелию и вовлечению все новых сосудов кровеносной системы матери в патологический процесс. Таким образом, при осложненной беременности активация лейкоцитов и нарушение функционального состояния эндотелия являются непосредственно связанными процессами. В результате того, что в этот период экспрессия маркеров готовности к апоптозу на активированных лейкоцитах снижена, увеличивается время их циркуляции в кровотоке, что способствует развитию клеточно-опосредованного иммунного ответа на антигены плода. Суммарный эффект ряда факторов поддерживает и усиливает процесс внутрисосудистой активации, который может приводить к прогрессированию микроциркуляторных и гемодинамических нарушений.

Заключение

Сложный каскад иммунологических событий, развивающийся в процессе гестации и сопровождающийся динамическим изменением цитокинового профиля и клеточного фенотипа как на системном, так и на локальном уровнях, до конца не расшифрован и требует дальнейшего изучения. Формирование иммунной толерантности при беременности обусловлено множеством активных и пассивных механизмов. Активные механизмы включают генерацию лимфоцитов со свойствами супрессоров, продукцию блокирующих антител и регуляторных факторов, участвующих в модуляции иммунного ответа. Нарушение плодово-материнских взаимодействий в ранние сроки беременности связано с нарушением индукции и/или поддержания иммунологической толерантности в отношении антигенов плода, ассоциированным со снижением ко-

личества регуляторных CD4⁺CD25⁺-Т-клеток на фоне дефицита продукции одного из основных факторов выживания лимфоцитов IL-2. Сниженная продукция IL-2 может приводить к угнетению пролиферации естественных регуляторных клеток и активации иммунного ответа материнской иммунной системы. Кроме того, патологически протекающая беременность характеризуется повышением относительного содержания лимфоцитов, экспрессирующих молекулы межклеточной адгезии CD54 и CD31, гиперпродукцией медиаторов воспаления (IFN- γ , IL-6, IL-8) и сниженным уровнем иммунорегулирующих цитокинов IL-4 и IL-10. Провоспалительная направленность иммунных реакций обуславливает длительную активацию эндотелия, способствующую в итоге изменению его функционального состояния, усилению прокоагулянтной активности и микротромбообразованию. Таким образом, при беременности, осложненной угрозой прерывания в ранние сроки, нарушение информационного обмена на уровне межклеточных взаимодействий является проявлением нарушения клеточно-опосредованных и цитокин-регулируемых механизмов поддержания иммунологической толерантности в отношении плода. Полученные данные свидетельствуют о недостаточной супрессорной реорганизации иммунной системы при патологически протекающей беременности (уменьшение содержания естественных регуляторных CD4⁺CD25⁺-клеток на фоне сниженного уровня IL-2), избыточности экспрессии молекул адгезии ICAM-1 и PECAM-1, усиливающих сродство лейкоцитов с эндотелиальными клетками, переключении иммунной системы материнского организма на Th1-зависимый иммунный ответ (повышение уровня IFN- γ и снижение концентрации IL-4), и, в целом, провоспалительной направленности иммунных реакций, обуславливающей гиперкоагуляционные сдвиги в системе гемостаза и повышающей риск тромботических осложнений. ■

Литература:

1. Ломунова М.А., Талаев В.В. Клетки трофобласта плаценты человека: пути их созревания и взаимодействие с иммунной системой. *Иммунология* 2007; 1: 50-8.
2. Сотникова Н.Ю. Современные иммунные аспекты беременности. *Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. Приложение* 2008; 1: 69-74.
3. Szekeres-Bartho J. Immunological relationship between the mother and the fetus. *Int Rev Immunol* 2002; 21(6): 471-95.
4. Светлаков А.В., Яманова М.В., Егорова А.Б., Мухомова С.В. Молекулярно-биологические аспекты имплантации у человека и животных. *Проблемы репродукции* 2002; 2: 16-28.
5. Павлов О.В., Сельков С.А. Иммунология репродукции: старые догмы и новые представления. *Журнал акушерства и женских болезней* 2004; ЛП (1): 89-97.
6. Ширшев С.В. Иммунология материнско-фетальных взаимодействий. Екатеринбург: УрО РАН; 2009.
7. Хонина Н.А., Пасман Н.М., Останин А.А., Черных Е.Р. Особенности продукции цитокинов при физиологической и осложненной беременности. *Акушерство и гинекология* 2006; 2: 11-5.
8. Останин А.А., Кустов С.М., Тыримова Т.В. и др. Показатели иммунитета беременных в раннем прогнозе развития фетоплацентарной недостаточности. *Акушерство и гинекология* 2010; 1: 33-8.
9. Верясов В.Н., Ванько Л.В., Сухих Г.Т. Роль Т-регуляторных клеток при беременности. *Акушерство и гинекология* 2010; 1: 6-11.
10. Череев А.Н., Ковальчук Л.В. Мембранные белки мононуклеарных фагоцитов в межклеточных взаимодействиях. *Журнал микробиологии и иммунологии* 1995; 3: 12-20.
11. Талаев В.Ю. Внутриклеточные пути передачи сигналов у Т-лимфоцитов в норме и при патологии. *Иммунология* 1999; 6: 20-4.
12. Kim I., Moon S.O., Kim S.H., Kim H.J., Koh Y.S., Koh G.Y. Vascular endothelial growth factor expression of intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1), vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM-1), and E-selectin through nuclear factor-kappa B activation in endothelial cells. *J Biol Chem* 2001; 276 (10): 7614-20.
13. Макацария А.Д., Бицадзе В.О., Акуляшвили С.В. Синдром системного воспалительного ответа в акушерстве. Москва: ООО «Медиаинское информационное агентство»; 2006.

14. Ковальчук Л.В. Антигенные маркеры клеток иммунной системы человека. CD (cluster differentiation) система. Москва; 2003.
15. Луговская С.А., Козинцев Г.И. Иерархия гемопоэтических клеток: кинетика, структура и функции. II часть. Клиническая лабораторная диагностика 2009; 7: 25-32.
16. Кубышева Н.И., Постникова Л.Б., Преснякова Н.Б. и др. Содержание растворимых CD25-, CD38-антигенов в биологических средах больных хронической обструктивной болезнью легких. Иммунология 2009; 4: 217-9.
17. Бурлев В.А., Зайдилова З.С., Тютюнов В.Л. и др. Роль факторов роста в развитии плацентарной недостаточности. Проблемы репродукции 1999; 6: 7-12.
18. Kusanovic J.P., Romero R., Chaiworapongsa T. et al. A prospective cohort study of the value of maternal plasma concentrations of angiogenic and anti-angiogenic factors in early pregnancy and midtrimester in the identification of patients destined to develop preeclampsia. The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine 2009; 22(11): 1021-38.
19. Сухих Г.Т., Вихляева Е.М., Ванько Л.В., Ходжаева З.С., Шуришалина А.В., Холви А.М. Эндотелиальная дисфункция в генезе перинатальной патологии. Акушерство и гинекология 2008 (5): 3-7.
20. Орлов В.И., Авруцкая В.В., Крымшохалова З.С., Крутиер И.И. Продукция факторов роста и вазоактивных веществ при синдроме задержки роста плода. Журнал акушерства и женских болезней 2008; LVII (2): 84-89.
21. Амчиславский Е.И., Соколов Д.И., Старикова Э.А., Фрейдлин И.С. Цитокиновый контроль процесса ангиогенеза. Мед иммунология 2003; 5-6: 493-506.
22. Старикова Э.А., Амчиславский Е.И., Соколов Д.И. и др. Изменения поверхностного фенотипа эндотелиальных клеток под влиянием провоспалительных и противовоспалительных цитокинов. Медицинская иммунология 2003; 5(1-2): 39-48.