

Н. В. Крошкина, Н. Ю. Сотникова, А. И. Малышкина, Т. А. Можаяева

## ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ КЛЕТОК МАКРОФАГАЛЬНОГО РЯДА ПРИ НЕВЫНАШИВАНИИ БЕРЕМЕННОСТИ.

*Федеральное государственное учреждение «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В.Н. Городкова» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации*

ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН КЛІТИН МАКРОФАГАЛЬНОГО РЯДУ ПРИ НЕВИНОШУВАННІ ВАГІТНОСТІ. Встановлено, що в нормі при настанні вагітності в плаценті підвищувалася кількість децидуальних макрофагів, що продукують TGFb1, IFN $\gamma$ , IL-1b, але знижувалася кількість IL-12 + макрофагів. У периферійній крові на початку вагітності також посилювалася продукція TGFb1 і знижувалася продукція IL-12 моноцитами, але на відміну від локального рівня продукція IFN $\gamma$  і IL-1b моноцитами знижувалася. При розвитку мимовільного викидня в популяції децидуальних макрофагів посилювалася внутрішньоклітинна продукція IL-12, IL-6 та IL-1b, а синтез IL-10 і TGFb1 макрофагами при цьому знижувався. У периферійній крові при мимовільному викидні відзначалися аналогічні зміни синтезу цитокінів клітинами фагоцитарного ряду.

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ КЛЕТОК МАКРОФАГАЛЬНОГО РЯДА ПРИ НЕВЫНАШИВАНИИ БЕРЕМЕННОСТИ. В норме при наступлении беременности в плаценте повышалось количество децидуальных макрофагов, продуцирующих TGFb1, IFN $\gamma$ , IL-1b, но снижалось число IL-12+ макрофагов. В начале беременности усиливалась продукция TGFb1 и снижалась продукция IL-12 моноцитами, но в отличие от локального уровня продукция IFN $\gamma$  и IL-1b моноцитами снижалась. При самопроизвольном выкидыше усиливалась внутриклеточная продукция IL-12, IL-6 и IL-1b децидуальными макрофагами, а синтез IL-10 и TGFb1 макрофагами снижался. В крови отмечались аналогичные изменения синтеза цитокинов фагоцитами.

FUNCTION ACTIVITY OF MONOCYTES/MACROPHAGES IN PREGNANCY LOSS. In physiological conditions the pregnancy onset was accompanied by elevation of the amount of decidual macrophages, producing TGFb1, IFN $\gamma$ , IL-1b and decrease of the number of IL-12+ macrophages in placenta. In peripheral blood during early pregnancy the high level of TGFb1 production and low level of IL-12 production by monocytes also were seen, but the production of IFN $\gamma$  and IL-1b by monocytes was reduced. The development of spontaneous abortion was accompanied by the increase of intracellular production of IL-12, IL-6 and IL-1b, and decrease of IL-10 and TGFb1 synthesis in population of decidual macrophages. Peripheral blood of women with spontaneous abortion was characterized by the same differences in cytokines synthesis by phagocytes cells.

**Ключеві слова.** Моноцити, макрофаги, вагітність, самовільний викидень, кров, децидуальна оболонка.

**Ключевые слова.** Моноциты, макрофаги, беременность, самопроизвольный выкидыш, кровь, децидуальная оболочка.

**Key words.** Monocytes, macrophages, pregnancy, recurrent spontaneous abortion, blood, decidua.

**ВВЕДЕНИЕ.** Во время беременности макрофаги представляют собой главный клеточный компонент на участке имплантации. Плотная инфильтрация макрофагов на поверхности раздела мать-плод заставляет предположить, что эти клетки участвуют в специфических функциях, связанных с беременностью. Макрофаги составляют около 20-35% клеток в лейкоцитарном инфильтрате децидуальной оболочки (ДО) плаценты, и их содержание остается в ДО высоким на протяжении всей беременности (1). Было установлено, что децидуальные макрофаги экспрессируют на своей поверхности HLA-DR АГ, продуцируют цитокины, хемокины и ростовые факторы, которые контролируют экспансию экстраэмбриональных тканей (2, 3). Макрофаги индуцируют апоптоз эндотелия и гладкомышечных клеток и тем самым контролируют трансформацию спиральных артерий и служат барьером между артериями и инвазивным трофобластом (4). Кроме того, установлено, что макрофаги кооперируют с клетками трофобласта на ранних стадиях беременности для

поддержки ремоделирования сосудов матки (5). Нарушение цитокинового каскада макрофагов может вести к развитию осложненной беременности, таким как преэклампсия, СЗРП, преждевременные роды (6). В последнее время установлено, что клетки моноцитарно/макрофагального ряда в зависимости от стимулирующего сигнала и микроокружения могут формировать две функционально различные популяции (7,8). Под влиянием IFN $\gamma$  и ЛПС индуцируется популяция классически активированных макрофагов – M1, секретирующих провоспалительные цитокины (IL-1 $\beta$ , IL-12, IFN $\gamma$ , IL-6), участвующих в противомикробном и противоопухолевом ответе (9, 10). При стимуляции IL-4, IL-10, IL-13, глюкокортикоидами, апоптотическими клетками, PPARs индуцируются «альтернативно» активированные макрофаги – M2, продуцирующие TGFb1, IL-10, участвующие в ангиогенезе, в восстановлении ткани, супрессии воспаления, а также в формировании иммунологической толерантности (7,8). Однако, роль функциональной дифференцировки моноцитов/макрофагов при

нарушениях беременности, в частности невынашивания, до конца еще не установлена.

Цель работы: Выявить особенности дифференцировки M1 и M2 фагоцитов на системном и локальном уровне при физиологической беременности и самопроизвольном выкидыше в 1 триместре гестационного периода.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.** Было обследовано 18 женщин с физиологическим течением беременности в 8-12 недель гестации, 14 женщин со спонтанным прерыванием беременности на ранних сроках, 20 небеременных женщин фертильного возраста. Материалом для исследования служили периферическая венозная кровь, децидуальная оболочка плаценты, эндометрий. Методом проточной цитофлюориметрии с помощью моноклональных антител определяли относительное содержание TGF $\beta$ 1+, IL-10+, IFN $\gamma$ +, IL-12+, IL-1 $\beta$ + моноцитов/макрофагов в суспензии мононуклеарных клеток, выделенных из периферической крови, ДО плаценты и эндометрия.

**РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.** Нами было установлено, что в начале беременности изменялось функциональное состояние децидуальных макрофагов по сравнению с характеристиками эндометриальных макрофагов. Так, в ДО плаценты на ранних сроках беременности возрастало количество макрофагов, продуцирующих TGF $\beta$ 1, IFN $\gamma$  и IL-1 $\beta$  ( $p < 0,01$  во всех случаях), но при этом снижалось число макрофагов, секретирующих IL-12 ( $p < 0,001$ ). В периферической крови также усиливалась продукция моноцитами TGF $\beta$ 1 и IL-12 ( $p < 0,01$  и  $p < 0,05$  соответственно), однако продукция IFN $\gamma$  и IL-1 $\beta$  в популяции моноцитов при наступлении беременности снижалась ( $p < 0,001$  в обоих случаях). Таким образом, при наступлении беременности на системном уровне в популяции моноцитов преобладали реакции, характерные для M2 популяции моноцитов. Тогда как на локальном уровне характер продукции цитокинов макрофагами отличался и усилением синтеза TGF $\beta$ 1, и повышением продукции провоспалительных цитокинов. По-видимому, провоспалительное микроокружение в ДО плаценты необходимо для создания благоприятных условий для имплантации и развития бластоцисты и тканей эмбриона, в которых по литературным данным напрямую участвуют IL-1 $\beta$  и IL-6, а IFN $\gamma$  регулирует функцию децидуальных клеток. В тоже время, уровень продукции IL-12 в популяции децидуальных макрофагов в начале беременности был снижен. Поскольку данный цитокин является основным фактором, активирующим цитотоксичность ЕК клеток, то видимо, в данный гестационный срок дополнительная активация ЕК нежелательна. Однако, следует отметить, что продукция противовоспа-

лительных цитокинов макрофагами в ДО плаценты преобладает над синтезом провоспалительных, что может указывать на сдвиг дифференцировки децидуальных макрофагов при физиологической беременности в сторону M2 типа. Биологический смысл этого явления может заключаться в том, что при беременности на локальном уровне необходимо создание условий, обеспечивающих супрессию реакций цитотоксичности и усиления процессов ангиогенеза, что определяется спектром цитокинов, продуцируемых M2 макрофагами.

Нами также было установлено, что при развитии самопроизвольного выкидыша (СВ) в I триместре гестации происходило значительное изменение цитокинового профиля клеток моноцитарно-макрофагального ряда. Так, в популяции децидуальных макрофагов при СВ достоверно усиливалась внутриклеточная продукция IL-12 ( $p < 0,01$ ), IL-6 ( $p < 0,01$ ) и IL-1 $\beta$  ( $p < 0,001$ ), в то время как синтез IL-10 и TGF $\beta$ 1 макрофагами при этом снижался ( $p < 0,001$  в обоих случаях). В периферической крови при развитии СВ нами было обнаружено аналогичное изменение внутриклеточной продукции цитокинов клетками фагоцитарного ряда. Следует отметить, что при СВ усиливалась как системная, так и локальная продукция IL-12. Это явление может лежать в основе хорошо известного факта усиления активности ЕК при досрочном прерывании беременности. Развитию системных провоспалительных и цитотоксических реакций может способствовать выявленное нами усиление продукции моноцитами IFN $\gamma$ , IL-6 и IL-1 $\beta$ . Таким образом, при развитии СВ как на локальном, так и на системном уровне отмечалось доминирование M1 пула фагоцитов, что может играть важную роль в патогенезе прерывания беременности на ранних сроках гестации.

**ВЫВОДЫ.** Развитие физиологической и патологической беременности характеризуется различной направленностью дифференцировки M1 и M2 фагоцитов. Для физиологического течения беременности необходима сбалансированная активация M1 и M2 децидуальных макрофагов и преобладание пула M2 моноцитов в периферической крови. При развитии самопроизвольного выкидыша как на системном, так и на локальном уровне преобладает активация популяции M1 фагоцитов.

**ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕГО ИССЛЕДОВАНИЯ.** Дальнейшее выявление локальных и системных факторов, регулирующих процесс физиологического протекания беременности и формирования акушерских патологий на ранних сроках гестационного периода, поможет расширить наши представления об иммунных механизмах, обеспечивающих развитие беременности.

**Литература.**

1. Gardner L., Moffett A. Dendritic cells in the human decidua // *Biol.Reprod.* – 2003. – V.69. – №4. – P.1438 –1446.
2. Huynh M.L., Fadok V.A., Henson P.M. Phosphatidylserine-dependent ingestion of apoptotic cell promotes TGF-beta 1 secretion and resolution of inflammation // *J.Clin.Invest.* – 2002. – V.109. – P. – 41- 50.
3. Croy B.A., van den Heuvel M.J., Borzychowski A.M., Tayade C. Uterine natural killer cells: a specialized differentiation regulated by ovarian hormones // *Immunol.Rev.* – 2006. – V.214. – P.161 -185.
4. Abrahams V.M., Kim Y.M., Straszewski S.L. et al. Macrophages and apoptotic cell clearance during pregnancy // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2004. – V.51. – P.275-282.
5. Nagamatsu T., Schust D.J. The contribution of macrophages to normal and pathological pregnancies // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2010. – V.63. – № 6. – P.460-471.
6. Mor G., Abrahams V.M. Potential role of macrophages as immunoregulators of pregnancy // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2003. – V.1. – №1. – P.119 -126.
7. Van Genderachter J.A., Movahedi K., van den Bossche J., De Baetselier P. Macrophages, PPARs, and cancer // *PPAR Research.* – 2008. – Vol. 2008 (ID 169414). – P. 1 – 11.
7. Mantovani A, Sozzani S, Locati M, Schioppa T, Saccani A, Allavena P, Sica A.. Infiltration of tumours by macrophages and dendritic cells: tumour-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes // *Novartis. Found. Symp.* – 2004. – Vol.256. – P.137-45.
8. Verreck F.A.W., de Boer T., Langerberg D.M.L., et. al. Human IL-23-producing type 1 macrophages promote but IL-10-producing type 2 macrophages subvert immunity to (myco)bacteria // *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America.* – 2004. – Vol.101. – №13. – P.4560 – 4565.

УДК 618.3-008.6-092:612.017.1

**А.В. Кудряшова, Н.Ю. Сотникова, И.А. Панова, Ю.Ю. Лазарева, Д.Д. Гасанова**  
**ВНУТРИКЛЕТОЧНАЯ ПРОДУКЦИЯ ЦИТОКИНОВ ЦИТОТОКСИЧЕСКИМИ**  
**Т-ЛИМФОЦИТАМИ И Т-ХЕЛПЕРАМИ ПРИ ГЕСТОЗЕ**

*Федеральное государственное учреждение «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации*

ВНУТРИШНЬОКЛІТИННА ПРОДУКЦІЯ ЦИТОКІНІВ ЦИТОТОКСИЧНИМИ ЛІМФОЦИТАМИ І Т-ХЕЛПЕРАМИ ПРИ ГЕСТОЗІ. Вивчали рівень клітин, що продукують цитокини в популяціях периферичних і децидуальної Т-хелперів і цитотоксичних Т-лімфоцитів. Результати дослідження показали, що при гестозі в популяції периферійних Т-хелперів зростає вміст клітин, які продукують IL-2, -4, -6, -10, IFN $\gamma$ , в популяції децидуальних Т-хелперів підвищується вміст IL-4-і IFN $\gamma$  - позитивних клітин. У популяції цитотоксичних Т-лімфоцитів в периферійній крові зростає рівень Perforin-позитивних клітин, але знижується рівень IFN $\gamma$  і Granzime B-продукуючих клітин, а на локальному рівні в плаценті знижується рівень клітин, що продукують IFN $\gamma$  і TNF $\alpha$ .

ВНУТРИКЛЕТОЧНАЯ ПРОДУКЦИЯ ЦИТОКИНОВ ЦИТОТОКСИЧЕСКИМИ Т-ЛИМФОЦИТАМИ И Т-ХЕЛПЕРАМИ ПРИ ГЕСТОЗЕ Изучали уровень клеток, продуцирующих цитокины в популяциях периферических и децидуальных Т-хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов. Результаты исследования показали, что при гестозе в популяции периферических Т-хелперов возрастает содержание клеток, продуцирующих IL-2, -4, -6, -10, IFN $\gamma$ , в популяции децидуальных Т-хелперов повышается содержание IL-4- и IFN $\gamma$ -позитивных клеток. В популяции цитотоксических Т-лимфоцитов в периферической крови возрастает уровень перфорин-позитивных клеток, но снижается уровень IFN $\gamma$ - и гранзим B-продуцирующих клеток, а на локальном уровне в плаценте снижается уровень клеток, продуцирующих IFN $\gamma$  и TNF $\alpha$ .

THE INTRACELLULAR CYTOKINE PRODUCTION BY CYTOTOXIC T-LYMPHOCYTES AND T-HELPERS AT GESTOSIS. The level of cells, producing cytokines, in subsets of peripheral and decidual T-helpers and cytotoxic T-lymphocytes was studied. The results of our work showed, that during gestosis the amount of cells, producing IL-2, -4, -6, -10, IFN $\gamma$  in the subset of peripheral T-helpers was increased, in the decidual subpopulation of T-helpers the level of IL-4- and IFN $\gamma$ -positive cells was also elevated. In the population of peripheral cytotoxic T-lymphocytes, on the contrary, the level of perforin-positive cells was increased, but the quantity of IFN $\gamma$ - and granzime B-producing cells was decreased, and at the local level the content of IFN $\gamma$  and TNF $\alpha$  producing cells in placenta was diminished.

**Ключові слова:** гестоз, Т-хелпери, цитотоксичні лімфоцити, цитокини

**Ключевые слова:** гестоз, Т-хелперы, цитотоксические лимфоциты, цитокины.

**Kew words:** gestosis, T-helpers, cytotoxic lymphocytes, cytokines.