

ВЛИЯНИЕ ДЕГИДРОЭПИАНДРОСТЕРОНА СУЛЬФАТА НА ФЕНОТИП И ФУНКЦИИ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК *IN VITRO*

Селедцова Н.В., Хонина Н.А., Тихонова М.А.,
Останин А.А., Пасман Н.М., Черных Е.Р.

ГУ НИИ клинической иммунологии СО РАМН, г. Новосибирск

Резюме. Работа посвящена исследованию влияния дегидроэпиандростерона сульфата (ДГЭАС) на фенотип и свойства дендритных клеток (ДК) здоровых беременных, генерируемых из моноцитов крови в присутствии GM-CSF и IFN α . Показано, что добавление ДГЭАС (10^{-6} М) с первых суток культивирования достоверно не влияет на субпопуляционный состав ДК. В то же время, добавление ДГЭАС на стадии созревания приводит к увеличению количества зрелых CD83 $^{+}$ и активированных CD25 $^{+}$ ДК, а также их предшественников (CD1a $^{+}$). Изменение фенотипа ДК под влиянием ДГЭАС сопровождается достоверным усилением их аллостимуляторной активности и снижением негативного контроля над количеством CD56 $^{+}$ CD16 $^{+}$ NK-клеток. Таким образом, ДГЭАС стимулирует генерацию, созревание и аллостимуляторную активность ДК, и одновременно ослабляет их негативную регуляцию в отношении количества CD56 $^{+}$ CD16 $^{+}$ NK-клеток. ДГЭАС-опосредованное изменение фенотипа и функции ДК обсуждается в качестве одного из возможных механизмов нарушения иммунологической толерантности к антигенам плода у беременных с надпочечниковой гиперандрогенией.

Ключевые слова: дегидроэпиандростерон сульфат, дендритные клетки, NK-клетки, гиперандрогения.

Selezdova N.V., Khonina N.A., Tikhonova M.A., Ostanin A.A., Passman N.M., Chernykh E.R.

EFFECTS OF DEHYDROEPIANDROSTERONE SULFATE UPON PHENOTYPE AND *IN VITRO* FUNCTIONS OF DENDRITIC CELLS

Abstract. The study deals with evaluation of dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS) effects upon phenotype and functions of dendritic cells (DCs), generated from blood monocytes of pregnant women by means of GM-CSF and IFN- α . It was shown, that initial supplementation with DHEAS (10^{-6} M, day 1 of culture) did not influence the pattern of DC subsets. Meanwhile, addition of DHEAS at the stage of DC maturation (last day of culture) is accompanied by a significant increase in mature CD83 $^{+}$ cells and activated DCs (CD25 $^{+}$), like as their precursors (CD1a $^{+}$). Furthermore, the DCs generated in presence of DHEAS were characterized by marked allostimulating activity and decreased ability to downregulate the numbers of CD56 $^{+}$ CD16 $^{+}$ NK cells. Hence, DHEAS promotes generation, maturation, and allostimulating activity of DCs, along with decreased negative regulation towards CD56 $^{+}$ CD16 $^{+}$ NK cell amounts. DHEAS-mediated changes in DCs' phenotype and functioning are discussed as a possible mechanism of disturbed immunological tolerance to fetal antigens in pregnant women with suprarenal hyperandrogenia. (*Med. Immunol.*, 2007, vol. 9, N 6, pp 589-596)

Адрес для переписки:

Селедцова Наталья Владимировна
630099, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская 14,
НИИ клинической иммунологии СО РАМН.
Тел.: (383) 228-21-01.
Факс: (383) 222-70-28.
E-mail: ct_lab@mail.ru

Характерным проявлением гиперандрогении надпочечникового генеза является высокий уровень дегидроэпиандростерона сульфата (ДГЭАС) в сыворотке крови. Развитие беременности у женщин с гиперандрогенией сопряжено с повышенным риском самопроизвольного аборта [1, 5], в патогенезе кото-

рого значительная роль отводится не только эндокринным, но и иммунным нарушениям. В данном контексте, например, обсуждается сдвиг цитокинового баланса в сторону Th1 медиаторов [24], а также увеличение количества и функциональной активности НК-клеток [9, 15, 31]. Наличие тесной взаимосвязи между иммунной и эндокринными системами подтверждается работами, в которых было показано прямое стимулирующее влияние ДГЭАС на цитотоксическую функцию НК-клеток [6, 28], на пролиферативную и цитокин-секреторную активность Т-лимфоцитов [21, 29, 27]. Таким образом, в период гестации повышенный уровень ДГЭАС может препятствовать формированию и/или снижать эффективность механизмов толерантности иммунной системы матери к аллоантигенам плода, что, по-видимому, и является основной причиной невынашивания беременности у женщин с гиперандрогенией.

По данным литературы, стимулирующее действие ДГЭАС на иммунокомпетентные клетки реализуется через специфические рецепторы [19]. Однако не исключено также наличие не прямых эффектов гормона, которые могут быть связаны, например, с его регуляторным влиянием на функциональную активность дендритных клеток (ДК). Исследование не прямых, ДК-опосредованных эффектов ДГЭАС представляет особый интерес, учитывая сообщения о реципрокном взаимодействии ДК с НК-клетками [11], а также данные о важной роли ДК в поляризации Th1/Th2 иммунного ответа [18, 32]. Тем не менее, в литературе практически отсутствуют сведения о характере взаимодействия ДГЭАС с ДК, о влиянии гормона на их дифференцировку, созревание и функциональную активность. Таким образом, целью настоящей работы стало исследование влияния ДГЭАС на фенотип и свойства ДК.

Материалы и методы

В исследование были включены 20 здоровых доноров крови и 17 женщин с физиологически протекающей беременностью во II триместре гестации. Все исследования проводили после получения информированного согласия женщин.

Мононуклеарные клетки (МНК) получали центрифугированием гепаринизированной венозной крови в градиенте плотности фиколла-верографина. Дозозависимый эффект ДГЭАС

(Sigma-Aldrich, Cat.No D5297) на функциональную активность МНК оценивали по уровню спонтанного и митоген-индуцированного пролиферативного ответа. Для этого МНК в концентрации $0,1 \times 10^6$ /лунку культивировали в 96-луночных круглодонных планшетах в среде RPMI-1640 (Sigma-Aldrich), дополненной 0,3 мг/мл L-глутамина, 5 мМ HEPES-буфера, 100 мкг/мл гентамицина и 10% инактивированной сыворотки доноров IV (AB) группы крови при 37°C в CO₂-инкубаторе. Для стимуляции клеток использовали анти-CD3 моноклональные антитела (анти-CD3мАТ, Медбиоспектр, Москва) в конечной концентрации 1 мкг/мл в течение 72 ч. Интенсивность пролиферации оценивали по включению ³H-тимидина (1 мкКю/лунку).

Моноциты выделяли на чашках Петри 33 мм² (Nuncclon, Дания) путем прилипания к пластику МНК ($2-5 \times 10^6$ /мл) в присутствии 10% сыворотки крови АВ(IV) группы. ДК генерировали путем культивирования прилипающей фракции МНК во флаконах для культивирования (Falcon, UK) в течение 3 сут. в среде RPMI-1640, дополненной 10% сыворотки плодов коровы (БиолоТ, Санкт-Петербург), в присутствии GM-CSF (1000 Ед/мл, Leucotax, Шеринг-Плау, Швейцария) и IFNα (1000 Ед/мл, Роферон-А, Roche, Швейцария) с последующим дозреванием с липополисахаридом (10 мкг/мл, ЛПС *E. coli* 0114:B4, Sigma-Aldrich) в течение 24 ч. Влияние ДГЭАС на фенотип ДК оценивали, добавляя гормон либо в начале культивирования, либо на стадии дозревания за 24 ч до окончания культивирования.

Фенотипирование ДК и НК-клеток проводили методом одноцветной или двухцветной проточной цитофлуориметрии (FACSCalibur, Becton Dickinson) с использованием программы Cell Quest (Becton Dickinson, США). Использовали меченые PE анти-CD1a, анти-CD123 мАТ (BD PharMingen, США), анти-CD14, анти-CD16 мАТ (Сорбент, Москва), меченые APC анти-CD11c мАТ (BD PharMingen, США), меченые FITC анти-CD25, анти-CD83 мАТ (BD PharMingen, США) и анти-CD56 мАТ (Сорбент, Москва).

Аллостимуляторную активность ДК оценивали в реакции смешанной культуры лимфоцитов (СКЛ). В качестве отвечающих клеток использовались МНК доноров ($0,1 \times 10^6$ /лунку). Стимуляторами служили дендритные клетки в соотношении МНК:ДК = 10:1. Пролиферативный ответ оценивался на 5 сут. ра-

диометрически по включению ^3H -тимидина (1 мКю/лунку), вносимого за 18 ч до окончания культивирования.

Влияние ДК, полученных в стандартных условиях или в присутствии ДГЭАС, на количество $\text{CD56}^+\text{CD16}^-$ и $\text{CD56}^+\text{CD16}^+$ НК-клеток оценивали в культурах МНК, инкубированных с ДК в соотношении 3:1 в течение 24 ч.

Математическая обработка полученных результатов проводилась на персональном компьютере с использованием пакета программ «STATISTICA 5.0».

Результаты

Согласно экспериментальным данным, ДГЭАС стимулирует пролиферативную и цитокин-секреторную активность лимфоцитов крыс F344 в митоген-стимулированных культурах [21]. Кроме того, Okabe T. с соавт. было показано, что активированные Т-клетки человека также экспрессируют функциональные ДГЭАС рецепторы [19]. Учитывая эти факты, задачей первого этапа работы стала оценка влияния ДГЭАС на спонтанную и анти-CD3-индуцированную пролиферацию Т-клеток. С этой целью был проведен сравнительный анализ интенсивности пролиферативного ответа в культурах МНК доноров крови и беременных женщин в присутствии ДГЭАС в диапазоне концентраций от 10^{-7} до 10^{-5} М (рис. 1). Из данных рисунка 1Б видно, что ДГЭАС дей-

ствительно усиливает пролиферацию активированных Т-лимфоцитов, стимулированных анти-CD3-антителами. Наиболее выраженный эффект ДГЭАС проявлялся в дозе 10^{-6} М в культурах МНК как здоровых доноров, так и беременных женщин с исходно сниженной митогенной реактивностью Т-клеток, которая, как известно, является одним из проявлений работы механизмов гестационной иммуносупрессии [3, 4]. Интересно отметить, что ДГЭАС в дозе 10^{-6} М усиливал также интенсивность спонтанной пролиферации МНК (рис. 1А). Данный факт может свидетельствовать об экспрессии функциональных ДГЭАС рецепторов не только на активированных, но и на покоеющихся клетках, а также о наличии среди свежeweделенных МНК крови определенного числа лимфоцитов, преактивированных *in vivo*. Таким образом, полученные нами данные, во-первых, подтвердили чувствительность МНК доноров, в том числе женщин с физиологической беременностью, к ДГЭАС-опосредованным сигналам, и, во-вторых, позволили определить оптимальную дозу гормона для последующей оценки его влияния на фенотип и свойства ДК *in vitro*.

Традиционно ДК получают путем культивирования прилипающей фракции мононуклеарных клеток с GM-CSF и IL-4 в течение 5-7 дней (незрелые CD1a^+ ДК) с последующим их созреванием в течение 24-48 ч в при-

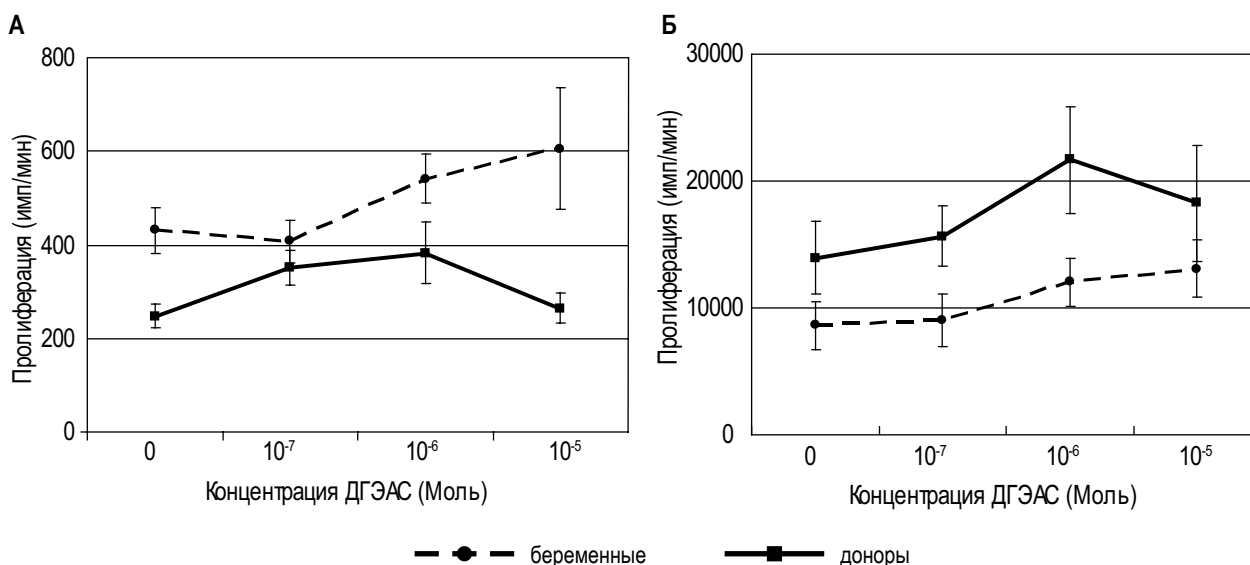


Рисунок 1. Влияние различных концентраций ДГЭАС на пролиферацию МНК здоровых доноров и беременных женщин

Примечание. Представлены средние значения ($M \pm S.E.$) спонтанной (А) и анти-CD3-стимулированной (Б) пролиферации МНК здоровых доноров ($n = 6$) и женщин с физиологической беременностью ($n = 10$) в присутствии ДГЭАС в различных концентрациях.

ТАБЛИЦА 1. ФЕНОТИПИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДК, ГЕНЕРИРУЕМЫХ В СТАНДАРТНЫХ УСЛОВИЯХ И ПРИ ДОБАВЛЕНИИ ДГЭАС

Показатель	Стандартные условия (n = 10)	В присутствии ДГЭАС (10 ⁻⁶ М)	
		В течение всего периода генерации ДК (n = 10)	На стадии дозревания ДК (n = 10)
CD83 ⁺	17,0±2,4	17,5±2,8	21,5±3,1**
CD1a ⁺	4,1±0,3	4,9±0,7	6,3±0,8*
CD11c ⁺	18,4±2,8	19,6±3,0	19,3±3,0
CD123 ⁺	21,6±3,4	23,0±3,8	21,5±4,1
CD14 ⁺	14,3±2,2	12,8±1,9	14,4±2,2
CD25 ⁺	8,8±2,2	9,4±1,6	12,0±2,1*

Примечания: данные представлены в виде М±С.Е.; *P_U < 0,05, **P_U < 0,01 – достоверность различий по сравнению с ДК, полученными в стандартных условиях (U – критерий Вилкоксона-Манна-Уитни в сопряженных парах).

сутствии различных стимулов (зрелые CD83⁺ ДК) [30]. В то же время существуют протоколы [25, 26], в которых вместо IL-4 используют интерферон-α (IFNα), что позволяет сократить сроки культивирования и получить популяцию ДК промежуточной степени зрелости, характеризующихся высокой способностью к захвату антигена, миграции и активации Th1-ответа за счет экспрессии СС-хемокиновых рецепторов (CCR5, CCR7) [13, 22, 26].

В своих исследованиях мы также использовали интерфероновый протокол для генерации ДК из периферической крови женщин с физиологической беременностью. В результате культивирования моноцитов периферической крови с GM-CSF и IFNα в течение 3-4 суток клетки теряли способность прилипать к пластику и приобретали типичные морфоло-

гические черты дендритных клеток. Фенотипический анализ показал (табл. 1), что полученные ДК представляли смешанную популяцию, включающую как зрелые CD83⁺ (17,0±2,4%), так и незрелые CD1a⁺ (4,1±0,3%) дендритные клетки. Относительное количество CD14⁺ моноцитов составляло 14,3±2,2% (в исходной популяции прилипающих клеток – 82,4±2,8%). При этом наряду с присутствием типичных миелоидных ДК (CD11c⁺ ДК 18,4±2,8%) в полученной популяции идентифицировались также ДК, экспрессирующие маркеры плазматидных ДК (CD123⁺ ДК 21,6±3,4%). Количество зрелых активированных CD25⁺ ДК с рецепторами к IL-2 составило 8,8±2,2%. Добавление ДГЭАС с первых суток культивирования достоверно не влияло на субпопуляционный состав ДК, генерируемых в стандартных условиях.

ТАБЛИЦА 2. ВЛИЯНИЕ ДГЭАС НА АЛЛОСТИМУЛЯТОРНУЮ АКТИВНОСТЬ ДК

Условия культивирования	Пролиферация (имп./мин)	ИВ
МНК	420±55	
МНК + ДК ₀ (10:1)	7460±1660	23,8±4,7
МНК + ДК _{ДГЭАС} (10:1)	12615±2425*	38,9±7,0 *

Примечания: данные представлены в виде М±С.Е. МНК доноров (n = 4) инкубировали в отсутствие и в присутствии ДК здоровых беременных (n = 8), генерированных в стандартных условиях (МНК+ДК₀) и с ДГЭАС (МНК+ДК_{ДГЭАС}). Индексы влияния (ИВ) рассчитывали как соотношение пролиферативного ответа МНК доноров при стимуляции дендритными клетками к уровню спонтанной пролиферации; * P_U < 0,05, достоверность различий по сравнению с МНК+ДК₀; (U-критерий Вилкоксона-Манна-Уитни в сопряженных парах).

ТАБЛИЦА 3. ВЛИЯНИЕ ДГЭАС НА ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ДК С НК-КЛЕТКАМИ

Условия культивирования	Субпопуляции НК-клеток (%)	
	CD56 ⁺ CD16 ⁻	CD56 ⁺ CD16 ⁺
МНК	4,0±0,4	14,0±0,7
МНК+ДК ₀ (3:1)	3,5±0,6	8,1±0,7*
МНК+ДК _{ДГЭАС} (3:1)	3,4±0,5	10,1±0,6* #

Примечания: данные представлены в виде М±С.Е. Количество НК-клеток оценивали в 24-часовых культурах МНК доноров, инкубированных в отсутствие и в присутствии ДК здоровых беременных (n = 8) генерированных в стандартных условиях (МНК+ДК₀) и с ДГЭАС (МНК+ДК_{ДГЭАС}). * P_U < 0,05 – достоверность различий по сравнению с МНК, # P_U < 0,05 – достоверность различий по сравнению с МНК+ДК₀ (U-критерий Вилкоксона-Манна-Уитни в сопряженных парах).

В то же время при добавлении ДГЭАС на стадии дозревания (совместно с LPS за 24 ч до окончания культивирования) регистрировалось увеличение доли как незрелых CD1a⁺ДК (с $4,1 \pm 0,3$ до $6,3 \pm 0,8\%$, $p_U < 0,05$), так и зрелых CD83⁺ДК (с $17,0 \pm 2,4$ до $21,5 \pm 3,1\%$, $p_U < 0,01$), в том числе активированных CD25-позитивных клеток (с $8,8 \pm 2,2$ до $12,0 \pm 2,1\%$, $p_U < 0,05$).

Для оценки способности ДК, обработанных ДГЭАС (ДК_{ДГЭАС}), презентировать антигены и активировать Т-клетки была исследована аллостимуляторная активность ДК женщин с физиологической беременностью в смешанной культуре лимфоцитов (СКЛ). Из данных таблицы 2 видно, что ДК, генерируемые в стандартном интерфероновом протоколе, обладали выраженной аллостимуляторной активностью (ИВ $23,8 \pm 0,3$) и индуцировали эффективный пролиферативный ответ МНК в соотношении 1:10. Добавление ДГЭАС (10^{-6} М) на стадии дозревания ДК сопровождалось достоверным усилением их аллостимуляторной активности (ИВ $38,9 \pm 7,0$), что свидетельствует о стимулирующем влиянии гормона на антигенпрезентирующую функцию ДК.

Среди иммунных дисфункций, выявляемых у беременных с угрозой самопроизвольного аборта, нередко регистрируют увеличение доли циркулирующих CD56⁺CD16⁺ NK клеток [9, 15, 31]. Учитывая сообщения о реципрокном взаимодействии ДК и NK-клеток [11], представлялось интересным исследовать влияние ДК, полученных в стандартных условиях и в присутствии ДГЭАС, на количество CD56⁺CD16⁺ и CD56⁺CD16⁺ клеток в культурах МНК (табл. 3). Видно, что совместное культивирование МНК с ДК не влияет на количество CD56⁺CD16⁺ клеток, но в то же время сопровождается достоверным снижением доли CD56⁺CD16⁺ клеток в среднем на 40%. При этом ингибирующее влияние ДК_{ДГЭАС} на количество CD56⁺CD16⁺NK-клеток было менее выраженным по сравнению с ДК, генерированными в стандартных условиях. Таким образом, ДК здоровых беременных способны влиять на субпопуляционный состав NK-клеток, снижая среди них долю клеток, коэкспрессирующих CD56 и CD16 молекулы. В то же время обработка дендритных клеток ДГЭАС приводит к ослаблению (частичной отмене) их регуляторного влияния в отношении количества CD56⁺CD16⁺ NK-клеток.

Обсуждение

Ранее нами было показано, что беременные с гиперандрогенией в отличие от женщин

с физиологической беременностью характеризуются повышенным уровнем митогенной реактивности Т-клеток [2], что согласуется с результатами проведенных нами витальных исследований и данными других авторов [8, 21], демонстрирующих дозозависимый, стимулирующий эффект ДГЭАС на пролиферацию МНК. По-видимому, усиление пролиферации Т-клеток под влиянием ДГЭАС реализуется через RACK-1-зависимый механизм активации, поскольку было показано, что добавление ДГЭАС в культуры клеток приводит к увеличению экспрессии на Т-лимфоцитах рецепторов к активированной С-киназе 1 (RACK-1) [8].

Однако влияние ДГЭАС на пролиферативную активность Т-лимфоцитов, очевидно, может быть не только прямым, но и опосредоваться непрямыми механизмами, например, через модуляцию свойств антигенпрезентирующих дендритных клеток. Действительно, фенотипический анализ показал, что добавление ДГЭАС на стадии дозревания ДК сопровождается достоверным увеличением количества зрелых (CD83⁺), в том числе активированных (CD25⁺) ДК. Canning M.O. с соавт. также показали, что добавление ДГЭАС к ДК, генерируемым из моноцитов периферической крови в присутствии GM-CSF и IL-4, приводит к образованию ДК с более зрелым фенотипом, что проявляется увеличением экспрессии костимуляторных молекул CD80 и снижением экспрессии молекул адгезии CD43 [7].

Изменение фенотипических характеристик ДК мы наблюдали только при добавлении ДГЭАС на этапе их конечного дозревания, что, по-видимому, может быть обусловлено постепенным увеличением плотности рецепторов на ДК, через которые реализуются эффекты гормона, а также костимуляторным действием специфического сигнала созревания (LPS). В любом случае, наши данные свидетельствуют о различной чувствительности ДК к ДГЭАС в зависимости от стадии дифференцировки и зрелости.

В качестве функциональных характеристик ДК, генерируемых в присутствии ДГЭАС, нами оценивалась их аллостимуляторная активность в СКЛ и влияние на субпопуляционный состав NK-клеток. Установлено, что ДК_{ДГЭАС} отличаются более выраженной способностью активировать пролиферацию Т-клеток в ответ на аллоантигены по сравнению с ДК, генерируемыми в стандартных условиях. Полученные результаты согласуются с данными литерату-

ры [7] и свидетельствуют о возможном участии ДГЭАС в нарушении механизмов толерантности к аллоантигенам плода у беременных с гиперандрогенией.

Изменение субпопуляционного состава НК-клеток под влиянием ДК, которое проявляется снижением числа CD56⁺CD16⁺ клеток, может быть связано с усилением апоптоза клеток, снижением уровня экспрессии CD16-молекул или «сдувания» FcγRIII с НК-клеток [17]. В пользу апоптоза свидетельствуют данные, демонстрирующие возможность апоптотической гибели НК-клеток после стимуляции через CD16-рецептор [14, 20]. В литературе встречаются сообщения о способности активированных НК-клеток к контакт-зависимому лизису незрелых ДК, тогда как зрелые CD83⁺ДК являются НК-резистентными [23]. Поэтому не исключено, что одним из возможных механизмов снижения CD56⁺CD16⁺клеток в культурах ДК-НК является запуск активационного апоптоза НК-клеток через стимуляцию CD16 в процессе лизиса ими незрелых ДК. Аналогичным образом апоптоз НК-клеток под влиянием ДК может осуществляться и через стимуляцию Fas или CD2 молекул [12]. Кроме того, известно, что ДК, в том числе генерируемые в интерфероновом протоколе, экспрессируют TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand — лиганд, принадлежащий к семейству TNF и индуцирующий апоптоз) [10], тогда как в НК-клетках содержится мРНК для всех рецепторов к этому лиганду [16]. Эти данные не исключают участия TRAIL-опосредованного апоптоза НК-клеток при их совместном культивировании с дендритными клетками. При этом различный уровень снижения/гибели НК-клеток в культурах с ДК₀ и ДК_{ДГЭАС} может быть связан с особенностями экспрессии перечисленных лигандов и их рецепторов на взаимодействующих клетках.

В своих предыдущих работах нами было показано, что у беременных с надпочечниковой гиперандрогенией отмечается увеличение доли активированных CD16⁺CD56⁺ НК-клеток в периферической крови [2], однако механизмы этого феномена оставались неясными. Проведенные витральные исследования свидетельствуют о возможном участии ДГЭАС, который через модуляцию свойств ДК, ослабляет их контроль над количеством CD16⁺CD56⁺ НК-клеток.

Таким образом, ДГЭАС в культуре *in vitro* стимулирует генерацию и созревание ДК,

а также усиливает их аллостимуляторную активность. Можно полагать, что изменение фенотипических и функциональных характеристик ДК под влиянием данного гормона может быть одним из возможных механизмов нарушения иммунологической толерантности к антигенам плода и развития гестационных осложнений у беременных с надпочечниковой гиперандрогенией.

Благодарности

Работа поддержана грантом РФФИ № 07-04-00967.

Список литературы

1. Абдурахманова Р.А., Омаров С.М.А. Влияние гиперандрогении у женщин на течение гестации и лактационную функцию // Рос. вестн. акушера-гинеколога. — 2002. — № 5. — С. 4-6.
2. Селедцова Н.В., Хонина Н.А., Дударева А.В., Тихонова М.А., Останин А.А., Пасман Н.М., Черных Е.Р. Нарушение иммунорегуляторных механизмов у беременных с гиперандрогенией // Бюл. СО РАМН. — 2006. — № 1. — С. 35-40.
3. Хонина Н.А., Дударева А.В., Тихонова М.А., Леплина О.Ю., Останин А.А., Пасман Н.М., Черных Е.Р. Нарушение механизмов активной иммуносупрессии при беременности, осложненной гестозом // Бюл. СО РАМН. — 2003. — № 3. — С. 73-76.
4. 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. — С. 11-15.
5. Эндокринные заболевания и синдромы / Под ред. М.С. Бирюковой. — М., 2000. — 165 с.
6. Aspinall R. Ageing and the immune system *in vivo* // Immunity & Ageing. — 2004. — Vol. 2. — P. 5.
7. Canning M.O., Grotenhuis K., de Wit H.J., Drexhage H.A. Opposing effects of dehydroepiandrosterone and dexamethasone on the generation of monocyte-derived dendritic cells // Eur. J. Endocrinol. — 2000. — Vol. 143, N 5. — P. 687-695.
8. Corsini E., Racchi M., Sinforiani E., Lucchi L., Viviani B., Rovati G.E., Govoni S., Galli C.L., Marinovich M. Age-related decline in RACK-1 expression in human leukocytes is correlated to plasma levels of dehydroepiandrosterone // J. Leukoc. Biol. — 2005. — Vol. 77, N 2. — P. 247-256.
9. Dosiou C., Giudice L.C. Natural killer cells in pregnancy and recurrent pregnancy loss: endo-

ocrine and immunologic perspectives // *Endocrine Reviews*. — 2005. — Vol. 26, N 1. — P. 44-62.

10. Fanger N.A., Maliszewski C.R., Schooley K., Griffith T.S. Human dendritic cells mediate cellular apoptosis via tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) // *J. Exp. Med.* — 1999. — Vol. 190. — P. 1155-1164.

11. Gerosa F., Baldani-Guerra B., Nisii C., Marchesini V., Carra G., Trinchieri G. Reciprocal activating interaction between natural killer cells and dendritic cells // *J. Exp. Med.* — 2002. — Vol. 195, N 3. — P. 327-333.

12. Ida H., Utz P.J., Anderson P., Eguchi K. Granzyme B and natural killer cell death // *Mod. Rheumatol.* — 2005. — Vol. 15. — P. 315-322.

13. Ito T., Amakawa R., Inaba M., Ikehara S., Inaba K., Fukuhara S. Differential regulation of human blood dendritic cell subsets by INFs // *J. Immunol.* — 2001. — Vol. 166. — P. 2961-2969.

14. Jewett A., Cavalcanti M., Bonavid B. Pivotal role of endogenous TNF- α in the induction of functional inactivation and apoptosis in NK cells // *J. Immunol.* — 1997. — Vol. 159. — P. 4815-4822.

15. Kwak J.Y., Beaman K.D., Gilman-Sachs A., Ruiz J.E., Schewitz D., Beer A.E. Up-regulated expression of CD56⁺, CD56⁺/CD16⁺ and CD19⁺ cells in peripheral blood lymphocytes in pregnant women with recurrent pregnancy losses // *Am. J. Reprod. Immunol.* — 1995. — Vol. 34. — P. 93-99.

16. Mirandola P., Ponti C., Gobbi G., Sponzilli I., Vaccarezza M., Cocco L., Zauli G., Secchiero P., Manzoli F. A., Vitale M. Activated human NK and CD8⁺ T-cells express both TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) and TRAIL receptors but are resistant to TRAIL-mediated cytotoxicity // *Blood*. — 2004. — Vol. 104. — P. 2418-2424.

17. Moldovan I., Galon J., Maridonneau P., Roman S., Mathiot C., Fridman W.H., Sautes-Fridman C. Regulation of production of soluble Fc gamma receptors type III in normal and pathological conditions // *Immunol. Lett.* — 1999. — N 1. — P. 125-134.

18. Nouri-Shirazi M., Banchereau J., Fay J., Palucka K. Dendritic cell based tumor vaccines // *Immunol. Lett.* — 2000. — N 7. — P. 5-10.

19. Okabe T., Haji M., Takayanagi R., Adachi M., Imasaki K., Kurimoto F., Watanabe T., Nawata H. Up-regulation of high-affinity dehydroepiandrosterone binding activity by dehydroepiandrosterone in activated human T-lymphocytes // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* — 1995. — Vol. 80. — P. 2993-2996.

20. Ortaldo J.R., Winkler-Pickett R.T., Shigekazu N., Ware C.F. Fas involvement in human NK cell apoptosis: lack of a requirement for CD16-mediated events // *J. Leukoc. Biol.* — 1997. — Vol. 61. — P. 209-215.

21. Pahlavani M.A., Harris M.D. Effect of dehydroepiandrosterone on mitogen-induced lymphocyte proliferation and cytokine production in young and old F344 rats // *Immunol. Lett.* — 1995. — Vol. 47, N 1-2. — P. 9-14.

22. Parlato S., Santini S.M., Lapenta C., Di Pucchio T., Logozzi M., Spada M., Giammarioli A.M., Malorni W., Fais S., Belardelli F. Expression of CCR-7, MIP-3 β and Th1-chemokines in type I IFN-induced monocyte-derived dendritic cells — importance for the rapid acquisition of potent migratory and functional activities // *Blood*. — 2001. — Vol. 98. — P. 3022-3029.

23. Piccioli D., Sbrana S., Melandri E., Valiante N.M. Contact-dependent stimulation and inhibition of dendritic cells by natural killer cells // *J. Exp. Med.* — 2002. — Vol. 195, N 3. — P. 335-341.

24. Raghupathy R. Pregnancy: success and failure within the Th1/Th2/Th3 paradigm // *Semin. Immunol.* — 2001. — Vol. 13. — P. 219-227.

25. Santini S.M., Lapenta C., Logozzi M., Parlato S., Spada M., Pucchio T.D., Belardelli F. Type I interferon as a powerful adjuvant for monocyte-derived dendritic cell development and activity in vitro and in Hu-PBL-SCID mice // *J. Exp. Med.* — 2000. — Vol. 191. — P. 1777-1788.

26. Santini S.M., Di Pucchio T., Lapenta C., Parlato S., Logozzi M., Belardelli F. A new type 1 IFN-mediated pathway for the rapid differentiation of monocytes into highly active dendritic cells // *Stem cells*. — 2003. — Vol. 21. — P. 357-362.

27. Schifitto G., McDermott M.P., Evans T., Fitzgerald T., Schwimmer J., Demeter L., Kiebert K. Autonomic performance and dehydroepiandrosterone sulfate levels in HIV-1-infected individuals: relationship to Th1- and Th2- cytokine profile // *Arch. Neurol.* — 2000. — Vol. 57, N 7. — P. 1027-32.

28. Solerte B., Prezerutti S., Gazzaruso C., Locatelli E., Zamboni M., Schifino N., Bonacasa R., Rondanelli M., Taccani D., Ferrari E., Fioravanti M. Defect of a subpopulation of natural killer immune cells in Graves' disease and Hashimoto's thyroiditis: normalizing effect of dehydroepiandrosterone sulfate // *Eur. J. Endocrin.* — 2005. — Vol. 152, N 5. — P. 703-712.

29. Suzuki T., Suzuki N., Daynes R.A., Engleman E.G. Dehydroepiandrosterone enhances IL-2

production and cytotoxic effector function of human T-cells // Clin. Immunol. Immunopathol. — 1991. — Vol. 61. — P. 202-211.

30. Thurner B., Röder C., Dieckmann D., Heuer M., Kruse M., Glaser A., Keikavoussi P., Kämpgen E., Bender A., Schuler G. Generation of large numbers of fully mature and stable dendritic cells from leukapheresis products for clinical applications // J. Immunol. Meth. — 1999. — Vol. 223. — P. 1-15.

31. Yamada H., Kato E.H., Kobashi G., Ebina Y., Shimada S., Morikawa M., Sakuragi N., Fujimoto S.

High NK cell activity in early pregnancy correlates with subsequent abortion with normal chromosomes in women with recurrent abortion // Am. J. Reprod. Immunol. — 2001. — Vol. 46. — P. 132-136.

32. Xiao B.G., Huang Y.M., Link H. Dendritic cell vaccine design: strategies for eliciting peripheral tolerance as therapy of autoimmune diseases // BioDrugs. — 2003. — Vol. 17, N. 5. — P. 103-111.

поступила в редакцию 18.05.2007

принята к печати 08.06.2007