

# ВЛИЯНИЕ РАСТВОРИМЫХ ПРОДУКТОВ ТКАНИ ПЛАЦЕНТЫ НА ЭКСПРЕССИЮ АДГЕЗИОННЫХ МОЛЕКУЛ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫМИ КЛЕТКАМИ EA.HY926

Степанова О.И., Львова Т.Ю., Пюрбеева Е.Н.,  
Мирашвили М.И., Зайнулина М.С., Сельков С.А.,  
Соколов Д.И.

Учреждение РАМН НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта СЗО РАМН, Санкт-Петербург

**Резюме.** Привлечение лейкоцитов в ткань плаценты является важным фактором ее развития. В этом плане адгезионные молекулы на эндотелиальных клетках являются определяющим фактором адгезии и трансэндотелиальной миграции лейкоцитов. Целью настоящего исследования явилась оценка изменений экспрессии адгезионных молекул эндотелиальными клетками под влиянием надосадочных жидкостей, полученных после культивирования ткани плаценты. Надосадочные жидкости, полученные после культивирования плацент первого и третьего триместра физиологической беременности, а также плацент третьего триместра беременности, осложненной гестозом, усиливали экспрессию CD31, CD9, CD62E, CD62P, CD34, CD54, CD51/61, CD49d, интегрин  $\beta 7$  эндотелиальными клетками по сравнению со спонтанным уровнем их экспрессии. Экспрессия молекулы CD9 эндотелиальными клетками после их инкубации в присутствии надосадочных жидкостей плацент третьего триместра беременности, осложненной гестозом, была выше по сравнению с ее экспрессией эндотелиальными клетками, проинкубированными в присутствии надосадочных жидкостей плацент третьего триместра физиологической беременности. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ ГК № 02.740.11.0711. и грантов Президента РФ № НШ-3594.2010.7 и МД-150.2011.7.

**Ключевые слова:** эндотелиальные клетки, адгезионные молекулы, плацента, гестоз.

*Stepanova O.I., Lvova T.U., Purbeeva E.N., Mirashvili M.I., Zainulina M.S., Selkov S.A., Sokolov D.I.*

## INFLUENCE OF SOLUBLE PLACENTAL TISSUE-DERIVED MOLECULES UPON EXPRESSION OF ADHESION MOLECULES BY EA.HY926 ENDOTHELIAL CELLS

**Abstract.** Leukocyte recruitment to placental tissue is an important factor of its development. In this respect, adhesion molecules at the endothelial cell surface represent a key determining factor of leukocyte adhesion and their trans-endothelial migration. The goal of investigation was to evaluate changed expression of adhesion molecules on the endothelial cells induced by supernates of placental tissue cultures. Placental tissue supernatants produced by the first- and third-trimester placental tissue from normal pregnancy, as well as from women with gestosis, induced higher expression of CD31, CD9, CD62E, CD62P, CD34, CD54, CD51/61, CD49d and integrin  $\beta 7$  expression by endothelial cells, as compared with their baseline levels. However, the supernates from pre-eclamptic placental tissue (3<sup>rd</sup> trimester) caused an increased CD9 expression by endothelial cells, as compared with effects of placental supernates from eclampsia-free cases. Our data contribute to understanding a possible role of endothelial cell adhesion molecules in recruitment of

### Адрес для переписки:

Соколов Дмитрий Игоревич

199034, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, 3.

Тел./факс: (812) 328-98-50, 323-75-45.

E-mail: corbie@hotmail.ru

leukocytes to placental tissue and possible participation of adhesion molecules in pathogenesis of pre-eclampsia. The work was supported by a grant from Russian Ministry of Education and Science ГК №02.740.11.0711 and Presidential grant № НШ-3594.2010.7 and МД-150.2011.7. (*Med. Immunol.*, 2011, vol. 13, N 6, pp 589-596)

*Keywords: endothelial cells, adhesion molecules, placenta, pre-eclampsia.*

## Введение

Привлечение лейкоцитов в децидуальную ткань матки определяет контроль развития плаценты [23] и формирование иммунной толерантности в отношении плода. Миграция лейкоцитов в децидуальную ткань матки регулируется адгезионными молекулами, экспрессируемыми клетками эндотелия сосудов. Эндотелиальные клетки (ЭК) конститутивно экспрессируют ICAM-2 и ICAM-3 [4], CD34 [33], MadCAM (CD146) [7], CD58 [6, 32], обеспечивающие первичный контакт и непрочную адгезию лейкоцитов. При активации ЭК экспрессируют E-селектин (CD62E) и P-селектин (CD62P), обеспечивающие роллинг лейкоцитов по поверхности эндотелия, а также ICAM-1 (CD54) и VCAM-1 (CD106), обеспечивающие адгезию мононуклеаров и способствующие их диапедезу в интиму сосудов при воспалительной реакции [4]. Молекула PECAM-1 (CD31), способствует трансэндотелиальной миграции моноцитов. Миграция лимфоцитов через эндотелий происходит через пространство между клетками эндотелия, поэтому молекулы межклеточной адгезии ЭК (CD31, CD9) также оказывают влияние на активность трансэндотелиальной миграции. Целостность монослоя ЭК клеток поддерживают такие молекулы, как HСAM (CD44) и CD146, CD29, CD51/61, интегрины  $\alpha 4$  (CD49d) и  $\beta 7$ , способствующие ангиогенезу сосудов. Ткань плаценты при физиологическом развитии секретирует различные цитокины [2], которые могут влиять на экспрессию адгезионных молекул эндотелиальными клетками. Изменение продукции цитокинов клетками плаценты при таких патологиях, как гестоз, может оказывать влияние на функциональное состояние ЭК. Важную роль в патогенезе гестоза играет нарушение функций эндотелия сосудистого русла матери, которое сопровождается изменением коагуляционных и тромбогенных характеристик крови матери, эндотелиальной дисфункцией, повышением тонуса сосудов, усилением адгезии мононуклеаров к эндотелию [17, 20]. При гестозе в ткани плаценты наблюдается скопление мононуклеарных инфилтратов [1], что отражает реализацию воспалительной реакции. Роль адгезионных молекул, экспрессируемых ЭК сосудов матки, в миграции лейкоцитов в децидуальную ткань при физиологической беременности и механизмы развития воспаления в ткани плаценты при гестозе в на-

стоящее время остаются недостаточно изученными.

**Целью настоящего исследования** было сравнительное изучение влияния факторов, секретируемых тканью плаценты на разных сроках физиологической беременности и при гестозе на экспрессию адгезионных молекул эндотелиальными клетками.

## Материалы и методы

Использовали плаценты, полученные при искусственном аборте у женщин с физиологическим течением беременности на сроке 9-11 недель (n = 15, группа 1); плаценты женщин, у которых беременность протекала без осложнений на сроке 38-39 недель (n = 25, группа 2); плаценты женщин с течением беременности, осложненным гестозом на сроке 38-39 недель (n = 25, группа 3). Все плаценты на сроке 38-39 недель получены при родоразрешении путем кесарева сечения. Диагноз гестоза установлен на основании ведущих клинических симптомов различной степени выраженности – наличие протеинурии, отеков, гипертензии (повышение систолического давления от 135 мм. рт. ст. и выше, диастолического давления от 85 мм. рт. ст. и выше). Кусочки ворсинчатого хориона из центральной части плацент культивировали 24 часа в питательной среде DMEM/F12 с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС) (Sigma, США). Кондиционированные среды замораживали при температуре -20 °С.

Исследования проводили с использованием ЭК линии EA.hy926, любезно предоставленной Dr. C.J. Edgel (Университет Северной Каролины, США). Культура получена путем гибридизации первичной эндотелиальной линии HUVEC с клетками карциномы легкого A-549 в 1983 году. Линия EA.hy926 воспроизводит основные морфологические, фенотипические и функциональные характеристики, присущие эндотелию.

ЭК вносили в лунки 24-луночного плоскодонного планшета для адгезионных культур в концентрации 170000 клеток на лунку в 1мл среды DMEM/F12 с добавлением 10% ЭТС и культивировали при 37 °С во влажной атмосфере с 5% содержанием CO<sub>2</sub> до образования конфлюэнтного монослоя. Затем клетки трижды отмывали теплым раствором Хенкса и вносили кондиционированные среды, полученные после культивирования ткани плаценты, разведенные культу-

ральной средой DMEM/F12 с добавлением 10% ЭТС в пропорции 1:1. Клетки культивировали 22 часа при 37 °С во влажной атмосфере с 5% содержанием CO<sub>2</sub>. Затем ЭК снимали с поверхности планшета раствором Версена. Оценивали жизнеспособность ЭК линии EA.Hy926, окрашивая трипановым синим (Sigma, США), при этом она составляла 95-97%. Затем инкубировали ЭК с FcR блокирующим реагентом (MACS, Германия) для снижения неспецифического связывания антител и проводили окрашивание атителами против CD31, CD62E, CD62P, CD34, CD9, CD54, CD51/61, CD29, CD49d, CD58(LFA-3) (BD, США). Пробоподготовку проводили в соответствии с рекомендациями производителя. Положительным контролем функциональной активности ЭК служила инкубация клеток линии EA.Hy926 в присутствии TNF $\alpha$  (50 Ед/мл) [3]. По сравнению со спонтанным уровнем экспрессии CD54 (интенсивность экспрессии 197,2 $\pm$ 25,6), инкубация с TNF $\alpha$  усиливала экспрессию этой молекулы (14448,8 $\pm$ 923,3,  $p < 0,01$ ) эндотелиальными клетками линии EA.Hy926. Оценку экспрессии поверхностных адгезионных молекул проводили с использованием проточного цитофлуориметра Facs Canto II (BD, США). Статистическую обработку данных проводили

в программе AtteStat 12.1.7, используя критерий Манна–Уитни, Вилкоксона и медианный тест.

## Результаты

Установлено, что более 98% эндотелиальных клеток линии EA.Hy926 экспрессируют молекулы CD31, CD9, CD29, CD58. Инкубация эндотелиальных клеток линии EA.Hy926 в присутствии. При этом относительное количество ЭК, экспрессирующих молекулы CD31, CD9, CD29, CD58, не изменялось после их инкубации в присутствии надосадочных жидкостей плацент всех исследованных групп по сравнению со спонтанным количеством (табл. 1).

Эндотелиальные клетки линии EA.Hy926 обладали высокой конститутивной интенсивностью экспрессии молекул CD9 и CD29 и сравнительно низкой конститутивной интенсивностью экспрессии молекул CD58, CD31, CD62E, CD62P, CD34, CD54, CD51/61, CD49d и интегрин  $\beta$ 7 (табл. 2). Относительное количество клеток линии EA.Hy926, экспрессирующих молекулы CD62E, CD62P, CD34, CD54, CD51/61, CD49d и интегрин  $\beta$ 7, было выше после их инкубации в присутствии надосадочных жидкостей плацент группы 1 (ранние сроки физиологической беременности) по сравнению с относительным количеством этих клеток, проинкубированных

**ТАБЛИЦА 1. ИЗМЕНЕНИЕ ОТНОСИТЕЛЬНОГО КОЛИЧЕСТВА ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК ЛИНИИ EA.HY926, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ АДГЕЗИОННЫЕ МОЛЕКУЛЫ ПОСЛЕ ИХ ИНКУБАЦИИ В ПРИСУТСТВИИ НАДОСАДОЧНЫХ ЖИДКОСТЕЙ, ПОЛУЧЕННЫХ ПОСЛЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ТКАНИ ПЛАЦЕНТ ЖЕНЩИН ГРУПП 1, 2 И 3**

Адгезионные молекулы	Исходное относительное количество (%) клеток, экспрессирующих адгезионные молекулы	Относительное количество (%) клеток линии EA.Hy926, экспрессирующих адгезионные молекулы после их инкубации с надосадочными жидкостями, полученными после культивирования ткани плаценты:		
		Физиологическая беременность 9-11 недель (группа 1)	Физиологическая беременность 38-39 недель (группа 2)	Беременность, осложненная гестозом (группа 3)
CD31	98,1 $\pm$ 0,42	96,93 $\pm$ 0,295	97,35 $\pm$ 0,276	98,05 $\pm$ 0,287
CD62E	0,8 $\pm$ 0,2	5,83 $\pm$ 0,672 $\diamond$	3,02 $\pm$ 0,253	2,77 $\pm$ 0,369
CD34	3,88 $\pm$ 0,55	12,61 $\pm$ 1,124 $\diamond$	8,87 $\pm$ 0,861* $\diamond$	7,72 $\pm$ 0,893
CD62P	2,18 $\pm$ 0,6	23,32 $\pm$ 5,469 $\diamond$	3,99 $\pm$ 0,281***	4,42 $\pm$ 0,448
CD9	99,76 $\pm$ 0,12	99,91 $\pm$ 0,06	99,94 $\pm$ 0,06	99,98 $\pm$ 0,07
CD54	41,18 $\pm$ 2,48	66,25 $\pm$ 2,79 $\diamond$	53,66 $\pm$ 1,08 $\diamond$ ***	54,68 $\pm$ 1,77 $\diamond$
CD51/61	39,48 $\pm$ 3,96	54,02 $\pm$ 2,08 $\diamond$	49,30 $\pm$ 2,01 $\diamond$	54,80 $\pm$ 1,09 $\diamond$
CD29	99,86 $\pm$ 0,12	99,89 $\pm$ 0,06	95,98 $\pm$ 42	100,04 $\pm$ 0,07
CD49d	34,54 $\pm$ 5,03	48,55 $\pm$ 3,45 $\diamond$	35,46 $\pm$ 1,74**	41,02 $\pm$ 2,02
CD58	99,92 $\pm$ 0,02	99,64 $\pm$ 0,08	99,80 $\pm$ 0,04	99,84 $\pm$ 0,03
интегрин $\beta$ 7	1,12 $\pm$ 0,11	27,62 $\pm$ 5,99 $\diamond$	6,42 $\pm$ 0,52*** $\diamond$	6,79 $\pm$ 0,69 $\diamond$

**Примечание.** Достоверность различий между группами: группы 1, 2 и 3 отличаются от исходного относительного количества клеток, экспрессирующих адгезионные молекулы  $\diamond$  –  $p < 0,05$ ; группа 1 отличается от группы 2 \*\*\* –  $p < 0,001$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \* –  $p < 0,05$ .

в присутствии среды DMEM/F12, содержащей 10% ЭТС (табл. 1). Параллельно отмечали усиление интенсивности экспрессии молекул CD31, CD62E, CD62P, CD34, CD9, CD54, CD51/61, CD49d и интегрин  $\beta 7$  клетками линии EA.Hy926 после их инкубации в присутствии надосадочных жидкостей плацент группы 1 по сравнению со спонтанным уровнем экспрессии этих молекул (табл. 2). Интенсивность экспрессии молекулы CD58 также не изменялась после инкубации ЭК в присутствии надосадочных жидкостей плацент всех исследованных групп по сравнению со спонтанным уровнем ее экспрессии (табл. 2).

Относительное количество клеток линии EA.Hy926, экспрессирующих молекулы CD34, CD54, CD51/61 и интегрин  $\beta 7$ , было выше после их инкубации в присутствии надосадочных жидкостей плацент группы 2 (третий триместр физиологической беременности) по сравнению с относительным количеством этих клеток, проинкубированных в присутствии среды DMEM/F12, содержащей 10% ЭТС (табл. 1). Параллельно отмечали усиление интенсивности экспрессии молекул CD31, CD62E, CD62P, CD34, CD54, CD51/61 и интегрин  $\beta 7$  и снижение интенсивности экспрессии CD29 клетками линии EA.Hy926 после их инкубации в присутствии надосадочных жидкостей плацент группы 2 по сравнению со спонтанным уровнем экспрессии этих молекул (табл. 2). Необходимо отметить, что отно-

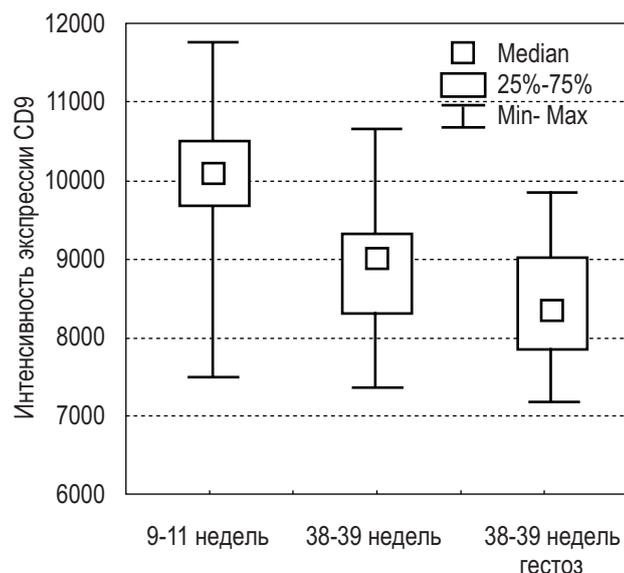
сительное количество клеток линии EA.Hy926, экспрессирующих CD62P, CD34, CD49d, CD54 и интегрин  $\beta 7$  было ниже после их инкубации в присутствии надосадочных жидкостей плацент группы 2 по сравнению относительным количеством этих клеток после инкубации в присутствии надосадочных жидкостей плацент группы 1 (табл. 1). Одновременно была снижена интенсивность экспрессии молекул CD9, CD29, CD49d, CD54, CD62P и интегрин  $\beta 7$  (табл. 2) эндотелиальными клетками линии EA.Hy926 после инкубации в присутствии надосадочных жидкостей плацент группы 2 по сравнению с теми же клетками, проинкубированными в присутствии надосадочных жидкостей плацент группы 1.

Установлено, что относительное количество клеток линии EA.Hy926, экспрессирующих молекулы CD54, CD51/61 и интегрин  $\beta 7$  увеличилось после их инкубации в присутствии надосадочных жидкостей плацент группы 3 (третий триместр беременности, осложненной гестозом) по сравнению с относительным количеством этих клеток, проинкубированных в присутствии среды DMEM/F12, содержащей 10% ЭТС (табл. 1). Параллельно отмечали увеличение интенсивности экспрессии молекул CD31, CD62E, CD62P, CD34, CD54, CD51/61, CD58 и интегрин  $\beta 7$  и снижение интенсивности экспрессии CD29 клетками линии EA.Hy926 после инкубации их в присутствии надосадочных жидкостей группы 3

**ТАБЛИЦА 2. ИЗМЕНЕНИЕ ИНТЕНСИВНОСТИ ЭКСПРЕССИИ АДГЕЗИОННЫХ МОЛЕКУЛ КЛЕТКАМИ ЛИНИИ EA.HY926 ПОСЛЕ ИХ ИНКУБАЦИИ В ПРИСУТСТВИИ НАДОСАДОЧНЫХ ЖИДКОСТЕЙ, ПОЛУЧЕННЫХ ПОСЛЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ТКАНИ ПЛАЦЕНТ ЖЕНЩИН ИССЛЕДОВАННЫХ ГРУПП 1, 2 И 3**

Адгезионные молекулы	Исходный уровень экспрессии адгезионных молекул (относительные единицы флуоресценции)	Интенсивность экспрессии исследуемых адгезионных молекул (относительные единицы флуоресценции) клетками линии EA.Hy926 после их инкубации с надосадочными жидкостями, полученными после культивирования ткани плаценты:		
		Физиологическая беременность 9-11 недель (группа 1)	Физиологическая беременность 38-39 недель (группа 2)	Беременность, осложненная гестозом (группа 3)
CD31	1392,4±114,69	1900,53±101,97 ◊	1778,56±61,75 ◊	1907,66±81,25 ◊
CD62E	49,6±8,76	98,80±4,17 ◊	73,00±4,08 ◊	73,86±7,4 ◊
CD34	401,2±27,29	775,87±45,99 ◊	541,60±25,69 ◊	515,16±35,66 ◊
CD62P	53,8±8,33	138,80±14,38 ◊	77,16±2,19 ◊ ***	82,37±3,91 ◊
CD9	8823,2±616,88	10759,00±580,25 ◊	8510,96±338,81 ***	7910,88±317,44
CD54	167,2±17,0	456,40±56,45 ◊	222,92±5,15 ◊ ***	224,04±8,64 ◊
CD51/61	230,8±13,68	307,27±11,95 ◊	268,60±11,44 ◊	286,04±12,0 ◊
CD29	6230±327,72	6525,40±222,03	5252,68±216,21*** ◊	5251,76±231,54 ◊
CD49d	103,6±17,65	151,87±11,98 ◊	109,28±5,53**	118,08±8,15
CD58	1064,4±14,91	1098,73 ±30,24	1091,19±24,54	1126,49±22,14
Интегрин $\beta 7$	36,2±10,52	107,60±13,57 ◊	58,16±3,32*** ◊	57,94±3,06 ◊

**Примечание.** Достоверность различий между группами: группы 1, 2 и 3 отличаются от исходного уровня экспрессии ◊ –  $p < 0,05$ ; группа 1 отличается от группы 2 \*\*\* –  $p < 0,001$ ; \*\* –  $p < 0,01$ .



**Рисунок 1. Интенсивность экспрессии CD9 под влиянием надосадочных жидкостей, полученных после культивирования ткани плаценты исследованных групп (медианный тест)**

по сравнению со спонтанным уровнем экспрессии этих молекул.

Нами не было отмечено достоверно значимых изменений как относительного количества клеток, экспрессирующих изученные молекулы, так и интенсивности экспрессии этих молекул клетками линии EA.Hy926 после их инкубации в присутствии надосадочных жидкостей плацент группы 3 по сравнению с инкубацией в присутствии надосадочных жидкостей плацент группы 2 (табл. 1 и 2). Медианный тест выявил тенденцию к снижению интенсивности экспрессии CD9 клетками линии EA.Hy926 (рис. 1) после их инкубации в присутствии надосадочных жидкостей плацент группы 3 по сравнению с экспрессией CD9 этими клетками в присутствии надосадочных жидкостей плацент группы 2.

## Обсуждение

Ткань плаценты секретирует различные факторы (MIP-1 $\alpha$  [14], CXCL12 [34], IL-8 [12], CXCL16 [18], IL-10 [2, 5], RANTES [29], PlGF [25], IL-6 [8, 13], bFGF [25], TNF $\alpha$  [19], ангиогенин [22, 25], IP-10 [21], IL-4 [2, 5], TGF- $\beta$  [13, 26], PDGF[25]), оказывающие влияние как на функциональное состояние клеток трофобласта, эндотелиальных клеток матки и плаценты, так и на адгезионные свойства лимфоцитов и моноцитов периферической крови матери, способствуя их адгезии и миграции через эндотелий сосудов в децидуальную ткань матки. Наличие этих цитокинов в надосадочных жидкостях, полученных после культивирования ткани плацент как на ранних, так и на поздних стадиях физиологической беременности, объясняет отмеченное нами

усиление экспрессии различных адгезионных молекул эндотелиальными клетками.

В первом триместре физиологической беременности ткань плаценты активно развивается. Нами установлено усиление экспрессии молекул CD31, CD62E, CD62P и CD54 эндотелиальными клетками под влиянием факторов, секретируемых тканью плаценты первого триместра беременности. Перечисленные молекулы способствуют контакту и адгезии лимфоцитов и моноцитов к ЭК сосудов и усиление их экспрессии под влиянием растворимых факторов, секретируемых тканью плаценты первого триместра (IL-6, IL-8 [2]), могут стимулировать миграцию лимфоцитов и моноцитов крови матери в децидуальную ткань. Полученные нами данные соответствуют данным литературы, свидетельствующим о привлечении лимфоцитов и моноцитов в ткань плаценты на ранних сроках беременности [16, 30, 34]. Показано, что CD31, обеспечивая плотный контакт ЭК друг с другом, способствует ангиогенезу [10, 28]. Поэтому усиление экспрессии CD31 эндотелиальными клетками под влиянием факторов, секретируемых тканью плаценты первого триместра беременности, по сравнению со спонтанным уровнем может способствовать становлению сосудистого русла в ткани плаценты в первом триместре беременности. Молекулы CD9, CD29, CD51/61, CD49d, интегрин  $\alpha 7$ , обеспечивая связь ЭК с компонентами межклеточного матрикса, оказывают влияние на ангиогенез в ткани плаценты [31]. Усиление экспрессии ЭК молекул CD9, CD29, CD51/61, CD49d, интегрин  $\beta 7$  отражает активный процесс ангиогенеза, про-

исходящий в первом триместре беременности в ткани плаценты и в децидуальной ткани.

Под влиянием факторов, секретируемых тканью плаценты в третьем триместре физиологической беременности, экспрессия молекул выше по сравнению с их спонтанной экспрессией ЭК. Однако установлено снижение экспрессии CD62P и CD54 эндотелиальными клетками под действием факторов, секретируемых тканью плаценты в третьем триместре беременности, по сравнению с первым триместром. Это может быть одним из механизмов снижения относительного количества клеток лимфоцитов и моноцитов, привлекаемых в ткань плаценты к концу физиологической беременности по сравнению с начальными этапами формирования ткани плаценты [11]. Снижение экспрессии ЭК CD9, CD29, CD49d, интегрин  $\beta 7$  под влиянием надосадочных жидкостей ткани плацент третьего триместра беременности по сравнению с первым, может отражать ограничение (завершение) ангиогенеза в третьем триместре беременности. Полученные данные согласуются с проведенными нами ранее исследованиями [2], которые свидетельствуют о повышении секреции IFN $\gamma$ , IL-8, IL-4 и IL-10 тканью плаценты в третьем триместре беременности по сравнению с первым. Цитокины могут влиять на экспрессию интегринов как напрямую, так и опосредованно. Например, IFN $\gamma$  усиливает экспрессию рецепторов TNF $\alpha$  [9], усиливая таким образом действие TNF $\alpha$ . Цитокины IFN $\gamma$ , IL-4 и IL-10 способствуют стабилизации сосудистого русла в ткани плаценты в третьем триместре беременности и поддержанию жизнеспособности ЭК.

Под влиянием факторов, секретируемых тканью плаценты при гестозе, установлена тенденция к снижению интенсивности экспрессии CD9, что может вносить вклад в нарушение развития ткани плаценты при гестозе. Снижение экспрессии CD9 может приводить к нарушению ангиогенеза, поскольку данная молекула принимает участие в миграции ЭК и их межклеточном взаимодействии [35]. Экспрессия остальных исследованных адгезионных молекул эндотелиальными клетками под влиянием факторов, секретируемых тканью плаценты при гестозе, не изменялась по сравнению с третьим триместром физиологической беременности. Однако при гестозе отмечается усиление инфильтрации ткани плаценты мононуклеарами [1], а также увеличение количества моноцитов и тимоцитов в децидуальной ткани [24], что свидетельствует о развитии реакции воспаления. Ранее нами было установлено, что ткань плаценты при гестозе секретирует повышенное по сравнению с физиологической беременностью количество RANTES [2], что может

усиливать привлечение моноцитов в ткань плаценты. Таким образом, усиление миграции клеток крови в ткань плаценты при гестозе не опосредовано изменением фенотипа эндотелиальных клеток, а происходит под влиянием хемоаттрактантов, секретируемых тканью плаценты, а также активацией лимфоцитов и моноцитов периферической крови [27].

## Заключение

В ходе настоящего исследования продемонстрировано влияние секреторных продуктов плаценты на фенотип эндотелиальных клеток. В первом триместре беременности характерна биологическая активность секреторных продуктов ткани плаценты, оказывающая стимулирующее действие на экспрессию адгезионных молекул эндотелиальными клетками, что может способствовать привлечению мононуклеаров периферической крови и интенсивному развитию ткани плаценты. В третьем триместре секреторные продукты ткани плаценты оказывают меньшее по сравнению с первым триместром стимулирующее действие на экспрессию ЭК адгезионных молекул, что может отражать стабилизацию сосудистого русла ткани плаценты и ограничение инфильтрации ткани плаценты моноцитами. При беременности, осложненной гестозом, нами не обнаружено изменения фенотипа ЭК под влиянием секреторных продуктов ткани плаценты по сравнению с физиологической беременностью. Следовательно, усиленная инфильтрация моноцитами ткани плаценты при гестозе, отражающая реализацию воспалительного процесса, может быть связана не только с уровнем активности ЭК, но и моноцитов периферической крови матери.

Полученные на линии ЭК EA.Hy926 данные позволяют предположить, что *in vivo* могут происходить аналогичные события с ЭК плаценты, которые под влиянием биологически активных молекул (цитокинов, хемокинов, ростовых факторов) меняют свой фенотип, в том числе и связанный с экспрессией адгезионных молекул, в зависимости от стадии гестационного процесса в соответствии с необходимостью оптимального развития сосудистой сети плаценты в конкретный период беременности.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ ГК № 02.740.11.0711. и грантов Президента РФ № НШ-3594.2010.7 и МД-150.2011.7.

## Список литературы

1. Соколов Д.И., Колобов А.В., Лесничая М.В., Костючек И.Н., Степанова О.И., Кветной И.М., Сельков С.А. Механизмы регуляции

апоптоза в ткани плаценты при физиологической беременности и при беременности, осложненной гестозом // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2009. – Т. 148, № 11. – С. 519-523.

2. Соколов Д.И., Лесничия М.В., Селютин А.В., Климова В.А., Аржанова О.Н., Сельков С.А. Роль цитокинов в контроле развития плаценты в норме и при гестозе // Иммунология. – 2009. – № 1. – С. 22-26.

3. Старикова Э.А., Амчиславский Е.И., Соколов Д.И., Фрейдлин И.С., Полосухина Е.Р., Барышников А.Ю. Изменение поверхностного фенотипа эндотелиальных клеток под влиянием провоспалительных и противовоспалительных цитокинов // Медицинская иммунология. – 2003. – Т. 5, № 1-2. – С. 39-48.

4. Фрейдлин И.С., Тотолян А.А. Клетки иммунной системы. – СПб.: Наука, 2000. – 231 с.

5. Ширшев С.В. Иммунология материнско-фетальных взаимодействий. Екатеринбург, 2009. – 582 с.

6. Barber D. F., Long E. O. Coexpression of CD58 or CD48 with intercellular adhesion molecule 1 on target cells enhances adhesion of resting NK cells // J. Immunol. – 2003. – Vol. 170. – P. 294-299.

7. Bardin N., Anfosso F., Masse J.-M., Cramer E., Sabatier F., Le Bivic A., Sampol J., Dignat-George F. Identification of CD146 as a component of the endothelial junction involved in the control of cell-cell cohesion // Blood. – 2001. – Vol. 98. – P. 3677-3684.

8. Benyo D.F., Smarason A., Redman C.W.G., Sims C., Conrad K.P. Expression of inflammatory cytokines in placentas from women with preeclampsia // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2001. – Vol. 86. – P. 2505-2512.

9. Bowen J.A., Hunt J.S. The role of integrins in reproduction // P.S.E.B.M. – 2000. – Vol. 223. – P. 331-343.

10. Cao G., O'Brien C.D., Zhou Z., Sanders S.M., Greenbaum J.N., Makrigiannakis A., Delisser H.M. Involvement of human PECAM-1 in angiogenesis and in vitro endothelial cell migration // Am J Physiol Cell Physiol. – 2002. – Vol. 282. – P. 1181-1190.

11. Cartwright J.E., Fraser R., Leslie K., Wallace A.E., James J.L. Remodelling at the maternal-fetal interface: relevance to human pregnancy disorders // Reproduction. – 2010. – Vol. 140. – P. 803-813.

12. De Oliveira L.G., Lash G.E., Murray-Dunning C., Bulmer J.N., Innes B.A., Searle R.F., Sass N., Robson S.C. Role of interleukin 8 in uterine natural killer cell regulation of extravillous trophoblast cell invasion // Placenta. – 2010. – Vol. 31. – P. 595-601.

13. Dimitriadis E., White C.A., Jones R.L., Salamonsen L.A. Cytokines, chemokines and growth factors in endometrium related to implantation // Human Reproduction Update. – 2005. – Vol. 11, N 6. – P. 613-630.

14. Drake P. M., Gunn M.D., Charo I.F., Tsou C.-L., Zhou Y., Huang L., Fisher S.J. Human placental cytotrophoblasts attract monocytes and CD56 bright Natural Killer cells via the actions of monocyte inflammatory protein 1 a // J. Exp. Med. – 2001. – Vol. 193, N 10. – P. 1199-1212.

15. Fujiwara T., Taketani Y. Demonstration of angiogenin in human endometrium and its enhanced expression in endometrial tissues in the secretory phase and the decidua // The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. – 2001. – Vol. 86, N 11. – P. 5609-5614.

16. Gomez-Lopez N., Guilbert L.J., Olson D.M. Invasion of the leukocytes into the fetal-maternal interface during pregnancy // J. Leukoc. Biol. – 2010. – Vol. 88. – P. 1-9.

17. Granger J.P., Alexander B.T., Llinas M.T., Bennett W.A., Khalil R.A. Pathophysiology of hypertension during preeclampsia linking placental ischemia with endothelial dysfunction // Hypertension. – 2001. – Vol. 38. – P. 718-722

18. Huang Y., Zhu X.-Y., Du M.-R., Li D.-J. Human trophoblasts recruited T lymphocytes and Monocytes into decidua by secretion of chemokine CXCL16 and interaction with CXCR6 in the first-trimester pregnancy // The Journal of Immunology – 2008. – Vol. 180. – P. 2367-2375.

19. Hung T.-H., Charnock-Jones D.S., Skepper J.N., Burton G.J. Secretion of tumor necrosis factor- $\alpha$  from human placental tissues induced by hypoxia-reoxygenation causes endothelial cell activation in vitro: A potential mediator of the inflammatory response in preeclampsia // American Journal of Pathology. – 2004. – Vol. 164, N 3. – P. 1049-1061.

20. Irminger-Fingera I., Jastrow N., Irion O. Preeclampsia: A danger growing in disguise // The International Journal of Biochemistry & Cell Biology. – 2008. – Vol. 40. – P. 1979-1983

21. Kai K., Nasu K., Nakamura S., Fukuda J., Nishida M., Miyakawa I. expression of interferon- $\gamma$ -inducible protein-10 in human endometrial stromal cells // Molecular Human Reproduction. – 2002. – Vol. 8, N 2. – P. 176-180.

22. Koga K., Osuga Y., Tsutsumi O., Yano T., Yoshino O., Takai Y., Matsumi H., Hiroi H., Kugu K., Momoeda M. Demonstration of angiogenin in human endometrium and its enhanced expression in endometrial tissues in the secretory phase and the deciduas // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2001. – Vol. 86. – P. 5609-5614.

23. Kruse A., Martens N., Fernekorn U., Hallmann R., Butcher E.C. Alterations in the expression of homing-associated molecules at the maternal/fetal interface during the course of pregnancy // *Biology of reproduction*. – 2002. – Vol. 66. – P. 333-345
24. Laresgoiti-Servitje E., Gormez-Lorpez N., Olson D.M. An immunological insight into the origins of pre-eclampsia // *Human Reproduction Update*. – 2010. – Vol. 16, N 5. – P. 510–524.
25. Lash G.E., Naruse K., Innes B.A., Robson S.C., Searle R.F., Bulmer J.N. Secretion of angiogenic growth factors by villous cytotrophoblast and extravillous trophoblast in early human pregnancy // *Placenta*. – 2010. – Vol. 31. – P. 545-548.
26. Lyall F., Simpson H., Bulmer J.N., Barber A., Robson S.C. Transforming growth factor- $\beta$  expression in human placenta and placental bed in third trimester normal pregnancy, preeclampsia, and fetal growth restriction // *Am J. Pathol.* – 2001. – Vol. 159, N 5. – P. 1827-1838.
27. Mellembakken J.R., Aukrust P., Olafsen M.K., Ueland T., Hestdal K., Videm V. Activation of leukocytes during the uteroplacental passage in preeclampsia // *Hypertension*. – 2002. – Vol. 39. – P. 155-160.
28. Park S.Y., DiMaio T. A., Scheef E. A., Sorenson C.M., Sheibani N. PECAM-1 regulates proangiogenic properties of endothelial cells through modulation of cell-cell and cell-matrix interactions // *Am J. Physiol Cell Physiol*. – 2010. – Vol. 299, N 6. – P. 1468-C1484.
29. Sato Y., Higuchi T., Yoshioka S., Tatsumi K., Fujiwara H., Fujii S. Trophoblasts acquire a chemokine receptor, CCR1, as they differentiate towards invasive phenotype // *Development*. – 2003. – Vol. 130 – P. 5519-5532.
30. Scaife P.J., Bulmer J.N., Robson S.C., Innes B.A., Searle R.F. Effector activity of decidual CD8+ T lymphocytes in early human pregnancy // *BIOLOGY OF REPRODUCTION*. – 2006. – Vol. 75 – P. 562-567.
31. Silva R., D'Amico G., Hodivala-Dilke K.M., Reynolds L.E. Integrins: the keys to unlocking angiogenesis // *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. – 2008. – Vol. 28. – P. 1703-1713.
32. Tomescu C., Law W. K., Kedes D.H. Surface downregulation of major histocompatibility complex Class I, PECAM, and ICAM-1 following de novo infection of endothelial cells with Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus // *Journal of virology* – 2003. – Vol. 77, N 17. – P. 9669-9684.
33. Wood H. B., May G., Healy L., Enver T., and Morriss-Kay G.M. CD34 expression patterns during early mouse development are related to modes of blood vessel formation and reveal additional sites of hematopoiesis // *Blood*. – 1997. - Vol. 90, N 6. – P. 2300-2311.
34. Wu X., Li-P. Jin, Min-Min Yuan, Zhu Y., Ming-Yan Wang, and Da-Jin Li. Human first-trimester trophoblast cells recruit CD56brightCD16 NK cells into decidua by way of expressing and secreting of CXCL12/stromal cell-derived factor 1 // *The Journal of Immunology*. – 2005. – Vol. 175 – P. 61-68.
35. Zhang F., Kotha J., Jennings L.K., Zhang X.A. Tetraspanins and vascular functions // *Cardiovascular Research* – 2009. – Vol. 83 – P. 7-15.

поступила в редакцию 15.04.2011

принята к печати 12.05.2011