

ВЛИЯНИЕ СЕКРЕТОРНЫХ ПРОДУКТОВ ТКАНИ ПЛАЦЕНТЫ НА ЭКСПРЕССИЮ ПОВЕРХНОСТНЫХ РЕЦЕПТОРОВ КЛЕТКАМИ ЛИНИИ ТНР-1

Львова Т.Ю., Онохина Я.С., Кореньков Д.А., Степанова О.И.,
Фураева К.Н., Потолицына Е.А., Сельков С.А., Соколов Д.И.

ФГБУ «Научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта» СЗО РАМН, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. В зоне маточно-плацентарного кровотока моноциты периферической крови матери подвергаются действию различных цитокинов и ростовых факторов, секретируемых тканью плаценты. Впоследствии эти клетки мигрируют в децидуальную ткань и играют важную роль в развитии и функционировании плаценты. Целью настоящего исследования явилось изучение влияния секреторных продуктов ткани плаценты, полученных при физиологической и осложненной гестозом беременностью, на экспрессию поверхностных рецепторов моноцитоподобными клетками линии ТНР-1. Секреторные продукты ткани плацент третьего триместра физиологической беременности приводили к снижению интенсивности экспрессии клетками линии ТНР-1 адгезионных молекул CD11a и CD18, а также молекул TRAIL, CD54, CD14 и VEGFR1 по сравнению с первым триместром. Под влиянием факторов, секретируемых тканью плаценты с гестозом, происходило увеличение интенсивности экспрессии молекул CD18 и CD54 и снижение интенсивности экспрессии VEGFR1 клетками линии ТНР-1 по сравнению с физиологической беременностью. Работа поддержана грантами Президента РФ №НШ-131.2012.7, СП-3492.2013.4, МК-1580.2013.7 и гранта РФФИ №13-04-00304 А.

Ключевые слова: моноциты, макрофаги, плацента, гестоз

Адрес для переписки:

Соколов Дмитрий Игоревич
д.б.н., старший научный сотрудник лаборатории
иммунологии ФГБУ «Научно-исследовательский
институт акушерства и гинекологии
им. Д.О. Отта» СЗО РАМН
199034, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, 3.
Тел.: 8 (812) 328-98-50.
E-mail: Falcojigger@yandex.ru

Авторы:

Львова Т.Ю. — лаборант-исследователь лаборатории
иммунологии ФГБУ «Научно-исследовательский
институт акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта»
СЗО РАМН, Санкт-Петербург
Онохина Я.С. — лаборант-исследователь лаборатории
иммунологии ФГБУ «Научно-исследовательский
институт акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта»
СЗО РАМН, Санкт-Петербург
Кореньков Д.А. — старший научный сотрудник
лаборатории иммунологии ФГБУ «Научно-
исследовательский институт акушерства и гинекологии
им. Д.О. Отта» СЗО РАМН, Санкт-Петербург
Степанова О.И. — научный сотрудник лаборатории
иммунологии ФГБУ «Научно-исследовательский
институт акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта»
СЗО РАМН, Санкт-Петербург
Фураева К.Н. — студентка, ФГБУ «Научно-
исследовательский институт акушерства и гинекологии
им. Д.О. Отта» СЗО РАМН, Санкт-Петербург
Потолицына Е.А. — студентка, ФГБУ «Научно-
исследовательский институт акушерства и гинекологии
им. Д.О. Отта» СЗО РАМН, Санкт-Петербург
Сельков С.А. — д.м.н., профессор, руководитель
лаборатории иммунологии ФГБУ «Научно-
исследовательский институт акушерства и гинекологии
им. Д.О. Отта» СЗО РАМН, Санкт-Петербург
Соколов Д.И. — д.б.н., старший научный сотрудник,
сотрудник лаборатории иммунологии ФГБУ «Научно-
исследовательский институт акушерства и гинекологии
им. Д.О. Отта» СЗО РАМН, Санкт-Петербург

Поступила 03.03.2013

Отправлена на доработку 10.04.2013

Принята к печати 05.06.2013

INFLUENCE OF SOLUBLE PLACENTA-DERIVED FACTORS UPON EXPRESSION OF SURFACE RECEPTORS ON THP-1 CELLS

Lvova T.Yu., Onochina Ya.S., Korenkov D.A., Stepanova O.I.,
Furaeva K.N., Potolicina E.A., Selkov S.A., Sokolov D.I.

D. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, Russian Academy of Medical Sciences, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. During the passage through the utero-placental circulation, peripheral blood monocytes are exposed to action of various soluble placenta-derived factors. Subsequently these cells migrate to placental tissue and play a key role in regulation of placental growth and development. We investigated the influence of placental secretory factors upon expression of THP-1 cells surface receptors during normal pregnancy, and pregnancy complicated with preeclampsia. Soluble placenta-derived factors produced by the third-trimester placenta caused reduced intensity of CD11a, CD18, CD54, CD14, TRAIL and VEGFR1 expression on THP-1 cells, as compared with the first-trimester placental extracts. Soluble placenta-derived factors from preeclamptic placenta caused an increased intensity of CD18 and CD54 expression by THP-1 cells and decreased intensity of VEGFR1 expression in comparison to normal pregnancy.

The work was supported by grants of the President of the Russian Federation № HIII-131.2012.7, СП-3492.2013.4 МК-1580.2013.7 and by grant РФФИ № 13-04-00304 А. (*Med. Immunol.*, 2013, vol. 15, N 5, pp 449-456)

Keywords: monocyte, macrophages, placenta, preeclampsia

Address for correspondence:

Sokolov Dmitriy I.
PhD, MD, Senior Research Associate, Department of Immunology, D. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology
199034, Russian Federation, St. Petersburg, Mendeleev Line, 3.
Phone: 7 (812) 328-98-50.
E-mail: Falcojugger@yandex.ru

Authors:

Lvova T.Yu., Research assistant, Department of Immunology, D. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, Russian Academy of Medical Sciences, St. Petersburg
Onochina Ya.S., Research assistant, Department of Immunology, D. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, Russian Academy of Medical Sciences, St. Petersburg
Korenkov D.A., Senior Research Associate, Department of Immunology, D. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, Russian Academy of Medical Sciences, St. Petersburg
Stepanova O.I. Research Associate, Department of Immunology, D. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, Russian Academy of Medical Sciences, St. Petersburg
Furaeva K.N., Student, Department of Immunology, D. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, Russian Academy of Medical Sciences, St. Petersburg
Potolicina E.A., Student, Department of Immunology, D. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, Russian Academy of Medical Sciences, St. Petersburg
Selkov S.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Chief, Department of Immunology, D. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, Russian Academy of Medical Sciences, St. Petersburg
Sokolov D.I., PhD, MD (Biology), Senior Research Associate, Department of Immunology, and Laboratory of Immunology with AIDS Diagnostics Group, D. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, Russian Academy of Medical Sciences, St. Petersburg

Received 03.03.2013
Revision received 10.04.2013
Accepted 05.06.2013

Введение

Макрофаги, присутствующие в децидуальной ткани матки на всем протяжении беременности, составляют 25-30% от всех лейкоцитов и являются важными продуцентами цитокинов и ростовых факторов, регулирующих процессы инвазии трофобласта, децидуализации эндометрия, развития сосудистой сети плаценты, индукции и контроля апоптоза [13, 18, 22, 33]. Пул децидуальных макрофагов пополняется за счет миграции моноцитов из периферической крови матери, на которые в зоне маточно-плацентарного кровообращения оказывает воздействие широкий спектр цитокинов и ростовых факторов, секретируемых клетками плаценты [8, 10, 20]. Источником цитокинов и ростовых факторов в плаценте выступают макрофаги, эндотелиальные клетки, клетки трофобласта [1, 3]. В течение беременности спектр секретируемых цитокинов изменяется [1]. На ранних сроках беременности плацента активно развивается, поэтому секретируемые клетками факторы обеспечивают перестройку ткани плаценты, формирование и развитие сосудистого русла плаценты. На поздних сроках беременности на передний план выходят процессы стабилизации сосудистой сети ткани плаценты и ограничение роста плаценты [1, 3]. Различные осложнения беременности, в частности гестоз, сопровождаются изменением продукции цитокинов и ростовых факторов тканью плаценты [1, 12, 15]. Результатом такого изменения при гестозе может стать изменение функционального состояния моноцитов, проходящих через зону маточно-плацентарного кровотока [20]. Изменение поверхностного фенотипа моноцитов, их адгезионной способности, чувствительности к ангиогенным и апоптогенным стимулам, их секреторной активности может играть существенную роль в патогенезе гестоза. Установлено, что моноциты, полученные из маточной вены беременных с гестозом, обладали повышенной экспрессией адгезионных молекул [20]. Вместе с тем на сегодняшний день в литературе недостаточно данных о влиянии факторов, секретируемых тканью плаценты, на изменение экспрессии поверхностных молекул моноцитами. **Целью настоящего исследования** явилось сравнительное изучение влияния факторов, секретируемых тканью плаценты на ранних и поздних сроках физиологической беременности и при гестозе, на фенотип моноцитоподобных клеток линии ТНР-1.

Материалы и методы

Обследовано 45 плацент, полученных от беременных женщин: 15 женщин на сроке 9-11 недель без признаков воспалительных изменений и инфекционных заболеваний (группа 1); 15 женщин с физиологическим течением беременности на сроке 38-39 недель (группа 2); 15 женщин на сроке 38-39 недель с беременностью, осложненной гестозом без признаков угрожающего

прерывания беременности на момент исследования. Диагноз гестоза установлен на основании ведущих клинических симптомов различной степени выраженности – протеинурии, отеков, гипертензии. Получено информированное согласие пациенток на обследование. Фрагменты ворсинчатого хориона из центральной части плаценты, полученные после искусственного аборта у женщин на сроке 9-11 недель и путем кесарева сечения на сроке 38-39 недель, культивировали 24 часа в среде DMEM/F12 с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС) (Sigma, США). Полученные кондиционированные среды собирали и хранили при температуре -20 °С до исследования.

Работа выполнена с использованием моноцитоподобных клеток линии ТНР-1, полученных из периферической крови человека с острой моноцитарной лейкемией [31]. Клетки линии ТНР-1 вносили в лунки 24-луночного плоскодонного планшета для суспензионных культур в концентрации 1×10^6 клеток на лунку в 600 мкл среды RPMI-1640 с добавлением 10% ЭТС. Затем вносили 400 мкл кондиционированных сред, полученных после культивирования ткани плацент, и инкубировали в течение 24 часов при 37 °С во влажной атмосфере с 5% содержанием CO₂. Положительным контролем служила инкубация клеток в присутствии 10 нг/мл форболмиристатацетата (PMA) или 50 Ед/мл фактора некроза опухоли (TNF α). По окончании культивирования оценивали жизнеспособность клеток при помощи раствора трипанового синего (Sigma, США), составившую 94-96%. Клетки окрашивали моноклональными антителами против CD11a, CD11b, CD11c, CD18, CD29, CD49d, CD54, CD95, TRAIL, VEGFR1, CD14 человека (BD, США) в соответствии с рекомендациями производителя. Изменения экспрессии исследуемых молекул на клетках линии ТНР-1 оценивали с помощью проточного цитофлуориметра FACS Canto II (BD, США). Определяли изменение относительного содержания клеток линии ТНР-1, экспрессирующих исследуемые поверхностные молекулы, и интенсивность их флуоресценции. Статистический анализ проводили в компьютерной программе AtteStat 12.1.7, используя критерий Манна-Уитни.

Результаты

PMA увеличивал относительное количество клеток линии ТНР-1, экспрессирующих молекулы CD11b, CD14 и VEGFR1, и интенсивность экспрессии молекул CD11b, CD14, VEGFR1 по сравнению со спонтанным уровнем их экспрессии (табл. 1, 2), что совпадает с описанными ранее в литературе данными [2, 27, 29]. Отмечено увеличение относительного количества клеток линии ТНР-1, экспрессирующих молекулы CD54, CD95 и TRAIL, а также увеличение интенсивности экспрессии молекул CD54, CD11c,

CD18, CD29, CD95, TRAIL и снижение интенсивности экспрессии молекулы CD49d клетками линии ТНР-1 в присутствии РМА по сравнению со спонтанным уровнем (табл. 1, 2). TNF α увеличивал относительное количество клеток линии ТНР-1, экспрессирующих молекулы CD11b, CD14 и CD54, но снижал относительное количество клеток линии ТНР-1, экспрессирующих молекулу CD95 по сравнению со спонтанным уровнем их экспрессии (табл. 1). Интенсивность экспрессии CD49d и CD95 в присутствии TNF α клетками линии ТНР-1 была ниже по сравнению со спонтанным уровнем, а интенсивность экспрессии CD14 выше (табл. 1, 2). Отмечено также увеличение интенсивности экспрессии молекулы CD54 клетками линии ТНР-1 (табл. 2), что совпадает с описанными ранее в литературе данными [21]. Установлено увеличение количества клеток линии ТНР-1, экспрессирующих молекулы CD11b, CD54, TRAIL, VEGFR1, CD14, а также усиление интенсивности экспрессии молекул CD54, CD95, VEGFR1, TRAIL, CD11b, CD18, CD14 и уменьшение интенсивности экспрессии молекул CD11a и CD49d под влиянием факторов, секретируемых тканью плаценты первого триместра беременности по сравнению со спонтанным уровнем. В присутствии факторов, секретируемых тканью плаценты третьего триместра физиологической беременности, интенсивность экс-

прессии молекул CD11a, CD11c, CD49d и CD18 клетками линии ТНР-1 была ниже по сравнению со спонтанным уровнем, а интенсивность экспрессии молекул CD54, CD95, VEGFR1, TRAIL, CD14 и количество клеток линии ТНР-1, экспрессирующих CD11b, CD54, TRAIL, VEGFR1, CD14, были выше (табл. 1 и 2). Установлена сниженная интенсивность экспрессии молекул CD11a, CD18, CD54, CD14, VEGFR1 и TRAIL клетками линии ТНР-1 под влиянием факторов, секретируемых тканью плаценты третьего триместра физиологической беременности, по сравнению с первым. Показано, что в присутствии факторов, секретируемых тканью плаценты при гестозе, повышено количество клеток линии ТНР-1, экспрессирующих CD11b, CD54, VEGFR1, TRAIL, CD14, и интенсивность экспрессии молекул CD54, CD95, VEGFR1, TRAIL, CD14 по сравнению со спонтанным уровнем, но снижена интенсивность экспрессии молекул CD11a, CD11c, CD18, CD49d по сравнению со спонтанным уровнем (табл. 1 и 2). Отмечена повышенная интенсивность экспрессии CD54, CD18 и пониженная интенсивность экспрессии VEGFR1 клетками линии ТНР-1 в присутствии секреторных продуктов плацент беременных женщин с гестозом по сравнению с физиологической беременностью (табл. 2).

ТАБЛИЦА 1. ИЗМЕНЕНИЕ ОТНОСИТЕЛЬНОГО КОЛИЧЕСТВА КЛЕТОК ЛИНИИ ТНР-1, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ИССЛЕДУЕМЫЕ МОЛЕКУЛЫ ПОСЛЕ ИХ ИНКУБАЦИИ В ПРИСУТСТВИИ НАДОСАДОЧНЫХ ЖИДКОСТЕЙ, ПОЛУЧЕННЫХ В РЕЗУЛЬТАТЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ТКАНИ ПЛАЦЕНТ ЖЕНЩИН ГРУПП 1, 2 И 3

Исследуемые молекулы	Исходное относительное количество клеток, экспрессирующих исследуемые молекулы (спонтанный уровень)	Относительное количество клеток линии ТНР-1, экспрессирующих исследуемые молекулы после их инкубации в присутствии		Относительное количество клеток линии ТНР-1, экспрессирующих исследуемые молекулы после их инкубации с надосадочными жидкостями, полученными в результате культивирования ткани плаценты женщин с		
		РМА (10 нг/мл)	TNF α (50 Ед/мл)	физиологической беременностью 9-11 недель (группа 1)	физиологической беременностью 38-39 недель (группа 2)	беременностью, осложненной гестозом (группа 3)
CD11a	81,7 \pm 1,9	81,1 \pm 2,4	82,0 \pm 1,5	79,8 \pm 0,8	78,9 \pm 1,0	80,4 \pm 0,8
CD11b	56,3 \pm 4,4	64,1 \pm 4,0 ^o	63,5 \pm 1,9 ^{oo}	65,0 \pm 1,2 ^{ooo}	64,0 \pm 2,4 ^{oo}	62,9 \pm 2,6 ^{oo}
CD11c	84,9 \pm 1,9	84,8 \pm 0,5	85,1 \pm 0,4	83,6 \pm 0,6	84,7 \pm 0,3	85,0 \pm 0,4
CD18	87,4 \pm 1,2	86,2 \pm 1,4	87,8 \pm 0,8	87,1 \pm 0,5	88,4 \pm 0,4	88,7 \pm 0,3
CD29	92,2 \pm 0,7	91,9 \pm 0,1	92,2 \pm 0,1	91,9 \pm 0,1	92,1 \pm 0,1	92,1 \pm 0,1
CD49d	90,7 \pm 0,9	90,2 \pm 0,4	90,7 \pm 0,1	90,3 \pm 0,1	90,6 \pm 0,1	90,6 \pm 0,1
CD54	58,8 \pm 4,1	90,0 \pm 5,0 ^{ooo}	91,8 \pm 5,1 ^{ooo}	77,8 \pm 1,44 ^{ooo}	79,1 \pm 2,3 ^{ooo}	77,8 \pm 2,0 ^{ooo}
CD95	1,2 \pm 0,4	6,2 \pm 0,6 ^{ooo}	0,7 \pm 0,2 ^o	2,0 \pm 0,5	1,8 \pm 0,2	1,4 \pm 0,2
VEGFR1	49,5 \pm 4,0	68,6 \pm 3,1 ^{ooo}	52,2 \pm 2,6	64,8 \pm 1,6 ^{ooo}	66,3 \pm 2,0 ^{ooo}	64,8 \pm 1,7 ^{ooo}
TRAIL	14,4 \pm 3,0	45,3 \pm 5,0 ^{oo}	15,6 \pm 5,2	25,4 \pm 4,0 ^o	25,2 \pm 3,8 ^o	26,6 \pm 3,1 ^{oo}
CD14	4,6 \pm 0,8	11,0 \pm 0,1 ^{ooo}	9,9 \pm 0,1 ^{ooo}	17,8 \pm 2,0 ^{ooo}	11,5 \pm 1,1 ^{ooo**}	12,8 \pm 1,8 ^{ooo}

Примечание. Достоверность различий между группами: группы 1, 2 и 3 отличаются от исходного относительного количества клеток, экспрессирующих исследуемые молекулы ^{ooo} – p < 0,001; ^{oo} – p < 0,01; ^o – p < 0,05; группа 1 отличается от группы 2 ^{**} – p < 0,01.

ТАБЛИЦА 2. ИЗМЕНЕНИЕ ИНТЕНСИВНОСТИ ЭКСПРЕССИИ ИССЛЕДУЕМЫХ МОЛЕКУЛ КЛЕТКАМИ ЛИНИИ ТНР-1 ПОСЛЕ ИХ ИНКУБАЦИИ В ПРИСУТСТВИИ НАДОСАДОЧНЫХ ЖИДКОСТЕЙ, ПОЛУЧЕННЫХ В РЕЗУЛЬТАТЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ТКАНИ ПЛАЦЕНТ ЖЕНЩИН ОБСЛЕДОВАННЫХ ГРУПП 1, 2 И 3

Исследуемые молекулы	Спонтанный уровень экспрессии (относительные единицы) исследуемых молекул	Интенсивность экспрессии (относительные единицы) исследуемых молекул клетками линии ТНР-1 после их инкубации в присутствии		Интенсивность экспрессии (относительные единицы) исследуемых молекул клетками линии ТНР-1 после их инкубации с надосадоочными жидкостями, полученными в результате культивирования ткани плаценты женщин с:		
		РМА (10 нг/мл)	TNF α (50 Ед/мл)	физиологической беременностью 9-11 недель (группа 1)	физиологической беременностью 38-39 недель (группа 2)	беременностью, осложненной гестозом (группа 3)
CD11a	1418,2±89,3	1445,8±54,7	1410,9±55,6	1219,9±49,2 ^{oo}	972,1±45,7 ^{ooo***}	1068,8±41,8 ^{ooo}
CD11b	2985,0±478,0	4864,3±744,8 ^{oo}	3054,9±254,2	3401,1±81,0 ^{ooo}	2652,8±316,5	2186,1±303,6
CD11c	1795,8±101,2	1982,8±64,9 ^{oo}	1720,9±29,9	1738,6±62,27	1611,8±25,4 ^{ooo}	1629,7±32,3 ^{ooo}
CD18	5906,2±427,7	8898,0±1321,9 ^{oo}	6685,6±732,5	7110,9±455,8 ^o	4108,2±147,6 ^{ooo***}	4379,4±313,8 ^{ooo##}
CD29	5546,5±330,2	7231,5±345,9 ^{ooo}	5476,3±54,3	5617,5±322,5	5526,7±67,8	5466,8±72,0
CD49d	7651,7±266,0	1062,8±1007,3 ^{ooo}	5817,5±357,7 ^{ooo}	5475,3±409,2 ^{ooo}	6508,0±139,3 ^{ooo}	6393,1±99,9 ^{ooo}
CD54	904,5±166,5	18664,7±3773,3 ^{ooo}	21337,8±1869,2 ^{ooo}	3992,0±454,9 ^{ooo}	1717,4±147,3 ^{ooo**}	2658,2±510,1 ^{ooo#}
CD95	28,2±4,1	52,9±4,3 ^{ooo}	10,6±3,8 ^{ooo}	50,6±6,2 ^{ooo}	37,3±2,6 ^{oo}	36,7±3,0 ^{oo}
VEGFR1	238,5±19,2	370,9±30,94 ^{ooo}	264,0±13,86	536,1±41,6 ^{ooo}	417,4±19,9 ^{ooo***}	368,7±19,6 ^{ooo#}
TRAIL	188,4±32,8	538,8±74,87 ^{oo}	190,6±12,7	275,9±12,9 ^{oo}	233,6±22,0 ^{o**}	241,9±15,1 ^{oo}
CD14	44,3±3,5	68,8±0,5 ^{ooo}	71,5±1,5 ^{ooo}	138,9±11,9 ^{ooo}	92,1±5,0 ^{ooo**}	110,0±8,2 ^{ooo}

Примечание. Достоверность различий между группами: группы 1, 2 и 3 отличаются от спонтанного уровня экспрессии ^{ooo} – p < 0,001; ^{oo} – p < 0,01; ^o – p < 0,05; группа 1 отличается от группы 2 ^{***} – p < 0,001; ^{**} – p < 0,01; группа 2 отличается от группы 3 ^{##} – p < 0,01; [#] – p < 0,05.

Обсуждение

Кондиционированные среды, полученные после культивирования ткани плацент женщин с физиологической беременностью ранних и поздних сроков и беременности, осложненной гестозом, увеличивали как относительное количество клеток линии ТНР-1, экспрессирующих молекулу CD14, так и интенсивность экспрессии по сравнению со спонтанным уровнем, что свидетельствует о возможном наличии в кондиционированных средах плацент всех исследуемых групп факторов, способных изменять функциональное состояние клеток линии ТНР-1. Уменьшение относительного содержания клеток линии ТНР-1, экспрессирующих молекулу CD14, и интенсивности ее экспрессии в присутствии секреторных продуктов плацент третьего триместра физиологической беременности по сравнению с первым триместром коррелирует с описанным нами увеличением секреции растворимой формы молекулы CD14 клетками линии ТНР-1 в присутствии секреторных продуктов плацент поздних сроков физиологической беременности (статья принята в печать в журнал «Медицинская иммунология» в 2012 году).

Повышение экспрессии молекулы CD54 клетками линии ТНР-1 под влиянием факторов, секреторируемых тканью плаценты при физиологической беременности, как в первом, так и в третьем

триместре, по сравнению со спонтанным уровнем свидетельствует об их активированном состоянии. Полученные на модели *in vitro* данные могут свидетельствовать в пользу активации моноцитов периферической крови матери при физиологической беременности, что согласуется с данными, описанными в литературе [7, 19]. Уменьшение интенсивности экспрессии молекулы CD54 клетками линии ТНР-1 в присутствии секреторных продуктов плацент третьего триместра физиологической беременности по сравнению с первым триместром свидетельствует в пользу снижения степени активации моноцитов на поздних сроках беременности. Вместе с тем полученные нами данные не согласуются с данными, описанными в литературе об увеличении активации моноцитов периферической крови с течением беременности [19].

В присутствии секреторных продуктов плацент первого триместра беременности происходило увеличение количества клеток линии ТНР-1, экспрессирующих молекулу CD11b, а также усиление интенсивности экспрессии молекул CD11b и CD18 и уменьшение интенсивности экспрессии молекул CD11a и CD49d по сравнению со спонтанным уровнем. Молекулы CD11a и CD18 являются субъединицами адгезионной молекулы LFA-1 (CD11a/CD18). Помимо интегрина CD11a/CD18, молекула CD18 является также субъединицей адгезионных молекул Mac-1 (CD11b/CD18)

и $\alpha\text{X}\beta 2$ (CD11c/CD18). Данные молекулы опосредуют миграцию моноцитов в субэндотелиальное пространство, связываясь с адгезионными молекулами, экспрессируемыми эндотелием [36]. На стадии плотной адгезии интегрин CD11a/CD18 взаимодействует с экспрессируемыми на эндотелии ICAM-1 (CD54), ICAM-2, ICAM-3, а на стадии трансэндотелиальной миграции — с JAM-A. Адгезионная молекула CD11b/CD18 взаимодействует с экспрессируемыми эндотелием ICAM-1, ICAM-2 и с адгезионной молекулой JAM-C [32, 36]. Адгезия моноцитов к эндотелиальным клеткам и их трансмиграция также опосредуется адгезионной молекулой VLA-4 (CD29/CD49d), которая связывается с адгезионными молекулами VCAM-1 и JAM, экспрессируемыми эндотелием [32]. Исходя из данных, полученных на модели *in vitro* с использованием клеток линии THP-1, можно предположить, что в первом триместре беременности под влиянием факторов, секретируемых тканью плаценты на моноцитах, также происходят аналогичные изменения в экспрессии указанных адгезионных молекул. Увеличение числа моноцитов CD11b⁺ и увеличение количества субъединиц CD11b и CD18 на каждой клетке может обеспечивать описанную ранее миграцию моноцитов периферической крови матери в децидуальную ткань на ранних сроках беременности [10, 11, 34]. В присутствии секреторных продуктов плацент третьего триместра беременности происходило увеличение количества клеток линии THP-1, экспрессирующих молекулу CD11b, и уменьшение интенсивности экспрессии молекул CD11a, CD11c, CD18, и CD49d по сравнению со спонтанным уровнем. Также показана сниженная интенсивность экспрессии молекул CD11a и CD18 клетками линии THP-1 под влиянием факторов, секретируемых тканью плаценты третьего триместра физиологической беременности, по сравнению с первым триместром. Таким образом, полученные данные об изменении экспрессии клетками линии THP-1 молекул CD54, CD11a, CD11b, CD11c, CD18, CD49d свидетельствуют об активирующем воздействии на клетки факторов, секретируемых тканью плаценты. При этом степень активации клеток THP-1 в присутствии факторов плацент первого триместра была выше по сравнению с третьим триместром. Указанные данные свидетельствуют в пользу снижения интенсивности миграции моноцитов периферической крови в децидуальную ткань матки и коррелируют с завершением формирования ткани плаценты.

Существенную роль в обеспечении физиологического формирования плаценты, развития и поддержания ее сосудистой сети играет сосудисто-эндотелиальный фактор роста (VEGF), действующий на клетки через рецепторы VEGF-R1 (Flt-1), VEGF-R2 (KDR) и VEGF-R3 (Flt4). Моноциты периферической крови экспрессируют мРНК VEGF-R1 и не экспрессируют VEGF-R2

[6, 30]. Рецептор VEGFR-1 существует также в растворимой форме — sVEGFR-1, сохраняющей способность связываться с VEGF, подавляя его биологические эффекты. Образуется sVEGFR-1 либо в результате альтернативного сплайсинга, либо в результате шеддинга или протеолитического отщепления мембранной формы рецептора [5, 14, 25]. При физиологической беременности существует баланс между продукцией VEGF децидуальными макрофагами и клетками плаценты и уровнем sVEGFR-1, нейтрализующего эффекты VEGF [17, 23]. Связывание VEGF-A и плацентарного фактора роста (PlGF) с рецептором VEGF-R1 способствует миграции моноцитов [6, 30]. На модели клеток линии THP-1 показано, что связывание VEGF-R1 с PlGF обеспечивает их хемотаксис [28]. Обнаруженное нами повышение количества клеток линии THP-1, экспрессирующих молекулу VEGF-R1 (табл. 1), а также интенсивности экспрессии VEGF-R1 клетками линии THP-1 в присутствии секреторных продуктов плацент всех исследуемых групп по сравнению со спонтанным уровнем может способствовать миграции моноцитов в децидуальную ткань плаценты. Вместе с тем установленное снижение интенсивности экспрессии молекул VEGFR1 клетками линии THP-1 в присутствии факторов, секретируемых тканью плаценты на поздних сроках физиологической беременности по сравнению с ранними сроками, может являться одним из механизмов снижения привлечения моноцитов в ткань плаценты на поздних сроках беременности. С другой стороны, данные о сниженной экспрессии VEGFR1 клетками линии THP-1 в присутствии факторов ткани плацент третьего триместра физиологической беременности коррелируют с отмеченной ранее сниженной экспрессией VEGF [1] и VEGFR1 [1] в ткани плаценты, а также сниженной секрецией тканью плаценты sVEGFR-1 [1] в третьем триместре по сравнению с первым триместром физиологической беременности. Это может отражать закономерное снижение продукции VEGF, sVEGFR1 и экспрессии VEGFR-1 моноцитами/макрофагами, связанное с завершением формирования структуры плаценты к концу беременности.

Важную роль в физиологическом развитии плаценты играют процессы апоптоза клеток плаценты. Одной из молекул, участвующей в активации апоптоза в клетке, является TRAIL (TNF-related apoptosis inducing ligand). Взаимодействие молекулы TRAIL с ее рецепторами (TRAILR1, TRAILR2) приводит к апоптозу клетки, экспрессирующей TRAILR [37]. При беременности TRAIL-индуцированный апоптоз играет важную роль в регуляции иммунного ответа и обеспечении перестройки ткани плаценты [24]. Увеличение экспрессии TRAIL клетками THP-1 в присутствии секреторных продуктов всех исследуемых групп может быть связано с наличием в кондиционированных средах интерферона- γ (IFN γ)

[24, 37]. При этом интенсивность экспрессии молекулы TRAIL клетками линии ТНР-1 в присутствии факторов плацент третьего триместра беременности была ниже по сравнению с первым триместром. На ранних сроках физиологической беременности плацента активно развивается, и повышение уровня экспрессии TRAIL может быть направлено на обеспечение ремоделирования ткани плаценты [24].

В присутствии факторов, секретируемых тканью плаценты при гестозе, повышена экспрессия молекулы CD54 клетками линии ТНР-1 по сравнению со спонтанным уровнем, что соответствует данным, описанным в литературе об активации моноцитов при гестозе [4, 7, 20, 26]. Гестоз характеризуется развитием воспалительной реакции в ткани плаценты, сопровождающейся увеличением количества мононуклеаров, инфильтрирующих децидуальную ткань плаценты [4, 16, 18, 22]. При гестозе клетки трофобласта под влиянием провоспалительных цитокинов экспрессируют ICAM-1 [9], что указывает на возможность моноцитов адгезировать к клеткам трофобласта. Ранее показано, что активированные липополисахаридом моноциты периферической крови адгезируют к клеткам трофобласта, проинкубированным с IFN γ за счет связывания ICAM-1 и LFA-1 [9, 35]. В присутствии секреторных продуктов ткани плацент беременных женщин с гестозом происходило повышение количества клеток линии ТНР-1, экспрессирующих CD11b, а также снижение интенсивности экспрессии молекул CD11a, CD11c, CD18 и CD49d по сравнению со спонтанным уровнем. В то же время интенсивность экспрессии молекулы CD18 клетками линии ТНР-1 была выше в присутствии факторов, секретируемых тканью плаценты при гестозе, по сравнению с физиологической беременностью третьего триместра. Исходя из полученных данных можно отметить, что в условиях *in vivo* увеличение количества моноцитов, экспрессирующих молекулу CD11b, при одновременном увеличении интенсивности экспрессии субъединицы CD18 может приводить к повышению их миграционной активности и свидетельствовать о ключевой роли указанных адгезионных молекул в описанной ранее повышенной инфильтра-

ции моноцитами ткани плаценты, наблюдаемой при гестозе [1, 16].

Нарушение баланса между продукцией VEGF децидуальными макрофагами и клетками плаценты и уровнем sVEGFR-1, нейтрализующего эффекты VEGF, может играть существенную роль в развитии гестоза [15]. Гестоз сопровождается повышенной секрецией sVEGF-R1 тканью плаценты в сравнении с физиологической беременностью [1]. В свою очередь, повышение продукции sVEGF-R1 может приводить к блокировке эффектов VEGF и PlGF и нарушению процессов ангиогенеза и формирования плаценты. Установленное нами снижение интенсивности экспрессии молекул VEGFR1 клетками линии ТНР-1 в присутствии секреторных продуктов плацент беременных женщин с гестозом по сравнению с физиологической беременностью может быть связано с шеддингом этой молекулы.

Таким образом, ткань плаценты, как при физиологической беременности, так и при беременности, осложненной гестозом, секретирует факторы, влияющие на изменение фенотипа клеток линии ТНР-1. Полученные данные могут свидетельствовать в пользу подобного влияния факторов, секретируемых тканью плацент изученных нами групп женщин, на моноциты в зоне маточно-плацентарного кровотока в условиях *in vivo*. При этом факторы плацент первого триместра физиологической беременности по сравнению с третьим триместром обладали большим стимулирующим действием в отношении экспрессии клетками линии ТНР-1 CD54 и адгезионных молекул, VEGFR1 и TRAIL. Эти данные коррелируют с данными, описанными в литературе о повышенной миграции мононуклеаров в децидуальную ткань в первом триместре беременности и завершении формирования ткани плаценты к третьему триместру. Увеличение экспрессии адгезионных молекул и снижение экспрессии VEGFR1 клетками линии ТНР-1 в присутствии факторов, секретируемых тканью плаценты при гестозе, может способствовать повышенной миграции моноцитов и реализации описанного ранее воспалительного процесса в ткани плаценты. Работа поддержана грантами Президента РФ № НШ-131.2012.7, СП-3492.2013.4, МД-1580.2013.7 и гранта РФФИ № 13-04-00304 А.

Список литературы

1. Соколов Д.И., Сельков С.А. Иммунологический контроль формирования сосудистой сети плаценты. – СПб.: Изд.-во Н-Л, 2012 – 208 с.

Ссылки 2-37 см. в References (стр. 455-456). See References for numbers 2-37 at pp. 455-456.

References

1. Sokolov D.I., Sel'kov S.A. Immunologicheskii kontrol' formirovaniya sosudistoy seti platsenty (Immunological control of placenta vascular network formation). *St. Petersburg, N-L Publishers, 2012. 208 p.*
2. Afton S.E., Caruso J.A., Britigan B.E., Qin Z. Copper egress is induced by PMA in human THP-1 monocytic cell line. *Biomaterials*, 2009, vol. 22, pp. 531-539.
3. Benirschke K., Kaufmann P. Pathology of the human placenta. 4th ed. Springer., 2000. 948 p.
4. Butterworth B.H., Greer I.A., Liston W.A., Haddad N.G., Johnston T.A. Immunocytochemical localization of neutrophil elastase in term placenta decidua and myometrium in pregnancy-induced hypertension. *Obstet Gynecol.*, 1991, vol. 98, pp. 929-933.

5. Cai J., Jiang W.G., Grant M.B., Boulton M. Pigment epithelium-derived factor inhibits angiogenesis via regulated intracellular proteolysis of vascular endothelial growth factor receptor 1. *J. Biol. Chem.*, 2006, vol. 281, pp. 3604-3613.
6. Clauss M., Wich H., Breier G., Knies U., Rckl W., Waltenberger J., Risau W. The vascular Endothelial growth factor receptor Flt-1 mediates biological activities. *J. Biol. Chem.*, 1996, vol. 271, no. 30, pp.17629-17634.
7. Faas M.M., Donker R.B., van Pampus M.G., Huls A.M., Salomons J., de Vos P., Aarnoudse J.G. Plasma of pregnant and preeclamptic women activate monocytes in vitro. *Am. J. Obstetr. Gynecol.*, 2008, vol. 199, pp. 84.e1-84.e8.
8. Fest S., Aldo P., Abrahams V., Visintin I., Alvero A., Chen R., Chavez S.L., Romero R., Mor G. Trophoblast-Macrophage Interactions: a Regulatory Network for the Protection of Pregnancy. *Am. J. Reprod. Immun.*, 2007, vol. 57, pp. 55-66.
9. Garcia-Lloret M.I., Winkler-Lowen B., Guilbert L.J. Monocytes adhering by LFA-1 to placental syncytiotrophoblasts induce local apoptosis via release of TNF- α . A model for hematogenous initiation of placental inflammations. *J. Leukoc. Biol.*, 2000, vol. 68, pp. 903-908.
10. 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, pp. 1-9.
11. 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. *J. Immunol.*, 2008, vol. 180, pp.2367-2375.
12. Kauma S.W., Wang Y., Walsh S.W. Preeclampsia is associated with decreased placental interleukin-6 production. *J. Immunol.*, 1991, vol. 147, pp. 2630-2637.
13. Khong T.Y. Immunohistologic study of the leukocytic infiltrate in maternal uterine tissues in normal and preeclamptic pregnancies at term. *Am. J. Reprod. Immun.*, 1987, vol. 15, pp. 1-8.
14. Kendall R.L., Thomas K.A. Inhibition of vascular endothelial cell growth factor activity by an endogenously encoded soluble receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1993, vol. 90, pp.10705-10709.
15. Lam C., Lim K.H., Karumanchi S.A. Circulating Angiogenic Factors in the Pathogenesis and Prediction of Preeclampsia. *Hypertension.*, 2005, vol. 46, no. 5, pp. 1077-1085.
16. Laresgoiti-Servitje E., Gormez-Lopez N., Olson D.M. An immunological insight into the origins of preeclampsia. *Hum. Reprod. Update.*, 2010, vol. 16, no. 5, pp. 510-524.
17. Lee E.S., Oh M.J., Jung J.W., Ji-Eun L., Hyun-Joo S., Kyung-Ju L., Hai-Joong K. The levels of circulating vascular endothelial growth factor and soluble Flt-1 in pregnancy complicated by preeclampsia. *J. Korean Med.Sci.*, 2007, vol. 22, pp. 94-98.
18. Lockwood C.J., Matta P., Krikun G., Koopman L.A., Masch R., Toti P., Arcuri F., Huang S.T., Funai E.F., Schatz F. Regulation of monocyte chemoattractant protein-1 expression by tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1beta in first trimester human decidua cells: implications for preeclampsia. *Am. J. Pathol.*, 2006, vol. 168, pp. 445-452.
19. Luppi P., Haluszczak C., Betters D., Richard C.A., Trucco M., DeLoia J.A. Monocytes are progressively activated in the circulation of pregnant women. *J. Leukoc. Biol.*, 2002, vol. 72, pp. 674-684.
20. Mellembakken J., Aukrust P., Olafsen M., Ueland T., Hestdal K., Videm V. Activation of Leukocytes During the Uteroplacental Passage in Preeclampsia. *Hypertension.*, 2002, vol. 39, pp. 155-160.
21. Mivazawa M., Ito Y., Kosaka N, Nukada Y, Sakaguchi H, Suzuki H, Nishiyama N. Role of TNF- α in THP-1 cell activation following alhergen exposure. *J. Toxicological Scien.*, 2008, vol. 33, pp. 71-83.
22. Mor G., Abrahams V.M. Potential role of macrophages as immunoregulators of pregnancy. *Reprod. Boil. and Endocrinol.*, 2003, vol. 1, pp.1-8.
23. Nagamatsu T., Schust D.J. The contribution of macrophages to normal and pathological pregnancies. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 2010, vol. 63, pp. 460-471.
24. Phillips T.A., Jian N., Pan G., Ruben S.M., Wei Y-F., Pace J.L., Hunt J.S. TRAIL (Apo-2L) and TRAIL Receptors in Human Placentas: Implications for Immune Privilege. *J. Immunol.*, 1999, vol. 162, pp. 6053-6059.
25. Rahimi N., Golde T.E., Meyer R.D. Identification of Ligand-Induced Proteolytic Cleavage and Ectodomain Shedding of VEGFR-1/FLT1 in Leukemic Cancer Cells. *Cancer Res.*, 2009, vol. 69, pp. 2607-2614.
26. Sacks G.P., Studena K., Sargent I., Normalpregnancy and preeclampsia both produce inflammatory changes in peripheral blood leukocytes akin to those of sepsis. *Am. J. Obstetr. Gynecol.*, 1998, vol. 179, pp. 80-86.
27. Schwende H., Fitzke E., Ambs P., Dieter P. Differences in the state of differentiation of THP-1 cells induced by phorbol ester and 1,25-dihydroxyvitamin D3. *J. Leukocyte Biol.*, 1996, vol. 592, pp. 555-564.
28. Selvaraj S., Giri R., Perelman N., Johnson C., Malik P., Kalra V. Mechanism of monocyte activation and expression of proinflammatory cytochemokines by placenta growth factor. *Blood.*, 2003, vol. 102, pp. 1515-1524.
29. Takashiba S., Van Dyke T.E., Amar S., Murayama Y., Soskolne A.W., Shapira L. Differentiation of Monocytes to Macrophages Primes Cells for Lipopolysaccharide Stimulation via Accumulation of Cytoplasmic Nuclear Factor κ B). *Infect. Immun.*, 1999, vol. 67, pp. 5573-5578.
30. Tchaikovski V., Fellbrich G., Waltenberger J. The molecular basis of VEGFR-1 Signal transduction pathways in primary human monocytes. *Atheroscler., Thromb. Vasc. Biol.*, 2007, vol. 28, pp. 322-328.
31. Tsuchiya S., Yamabe M., Yamaguchi Y., Kobayashi Y., Konno T., Tada K. Establishment and characterization of a human acute monocytic leukemia cell line (THP-1). *Int. J. Cancer.*, 1980, vol. 26, pp. 171-176.
32. Van Buul J.D., Hordijk P.L. Signalling in Leukocyte Transendothelial migration. *Atheroscler., Thromb. Vasc. Biol.*, 2004, vol. 24, pp. 824-833.
33. Warning J., McCracken S., Morris J. A balancing act: mechanisms by which the fetus avoids rejection by the maternal immune system. *Reproduction.*, 2011, vol. 141, pp. 715-724.
34. Williams P.J., Bulmer J.N., Searle R.F. Altered decidua leucocyte populations in the placental bed in pre-eclampsia and foetal growth restriction: a comparison with late normal pregnancy. *Reproduction.*, 2009, vol. 138, pp. 177-184.
35. Xiao J., Garcia-Lloret M., Winkler-Lowen B., Miller R., Simpson K., Guilbert L.J. ICAM-1-Mediated Adhesion of Peripheral Blood Monocytes to the Maternal Surface of Placental Syncytiotrophoblasts. *Am. J. Pathol.*, 1997, vol. 150, pp. 1845-1860.
36. Yang L., Garcia-Cardena G., Lusinskas F.W. Endothelial-Dependent Mechanisms of Leukocyte Recruitment to the Vascular Wall. *Circ. Res.*, 2007, vol. 101, pp. 234-237.
37. Zauli G., Secchiero P. The role of the TRAIL/TRAIL receptors system in hematopoiesis and endothelial cell biology. *Cytokine Growth Factors Rev.*, 2006, vol. 16, pp. 245-257.