

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ГОРМОНАЛЬНОЙ РЕГУЛЯЦИИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ



С.В. Ширшев,
*доктор биологических наук,
заведующий лабораторией
экологической гинетики,
Институт экологии и генетики
микроорганизмов УрО РАН*



Е.М. Куклина,
*доктор биологических наук,
ведущий научный сотрудник,
Институт экологии и генетики
микроорганизмов УрО РАН*



С.А. Заморина,
*кандидат биологических наук,
ведущий научный сотрудник,
Институт экологии и генетики
микроорганизмов УрО РАН*

Представлены данные по иммунорегулирующему действию основных гормонов плаценты. На основе собственных исследований и данных литературы проанализированы молекулярные механизмы действия белково-пептидных и стероидных гормонов плаценты, регулирующие функцию клеток иммунной системы матери. Показано, что гормоны беременности тормозят клеточно-опосредованный цитолитический иммунный ответ матери, направленный против антигенов плода, формируя фетопротекторные реакции, способствующие успешному протеканию процессов гестации.

Беременность является наиболее загадочным феноменом в иммунологии, поскольку плод частично экспрессирует антигены отца, а любая ткань, несущая признаки генетической чужеродности, отторгается. Поэтому проблема трансплантации органов и тканей до сих пор не решена. В то же время плод при физиологически протекающей беременности не отторгается, а, напротив, растет и развивается. Существует достаточно теорий, пытающихся объяснить этот феномен. Важно, что любая из имеющихся на сегодня концепций учитывает новый эндокринный статус беременной женщины. Во время

беременности развивается плацента – новая эндокринная железа, сочетающая в себе функции практически всех известных желез внутренней секреции.

Плацента продуцирует массу различных по химической структуре гормонов, нейротрансмиттеров и ростовых факторов. Это и стероиды, и большая группа белково-пептидных гормонов, среди которых особое значение имеют хорионические аналоги гипофизарных гормонов. Некоторые из этих гормонов впервые появляются в организме и по праву именуются гормонами беременности. Гормоны являются не только важными регулятора-

ми процессов гестации, но и модуляторами иммунной системы, поскольку практически на всех лимфоидных и меллоидных клетках экспрессируются специфические рецепторы, способные взаимодействовать с гормонами (рис. 1). Это объясня-

реагирования, за счет продукции антител, либо в клеточно-опосредованный, генерирующий Т-лимфоциты-киллеры. Регуляторами, определяющими тип ответа, выступают Т-клетки-хелперы (Th), которые различаются по набору, продуцируе-

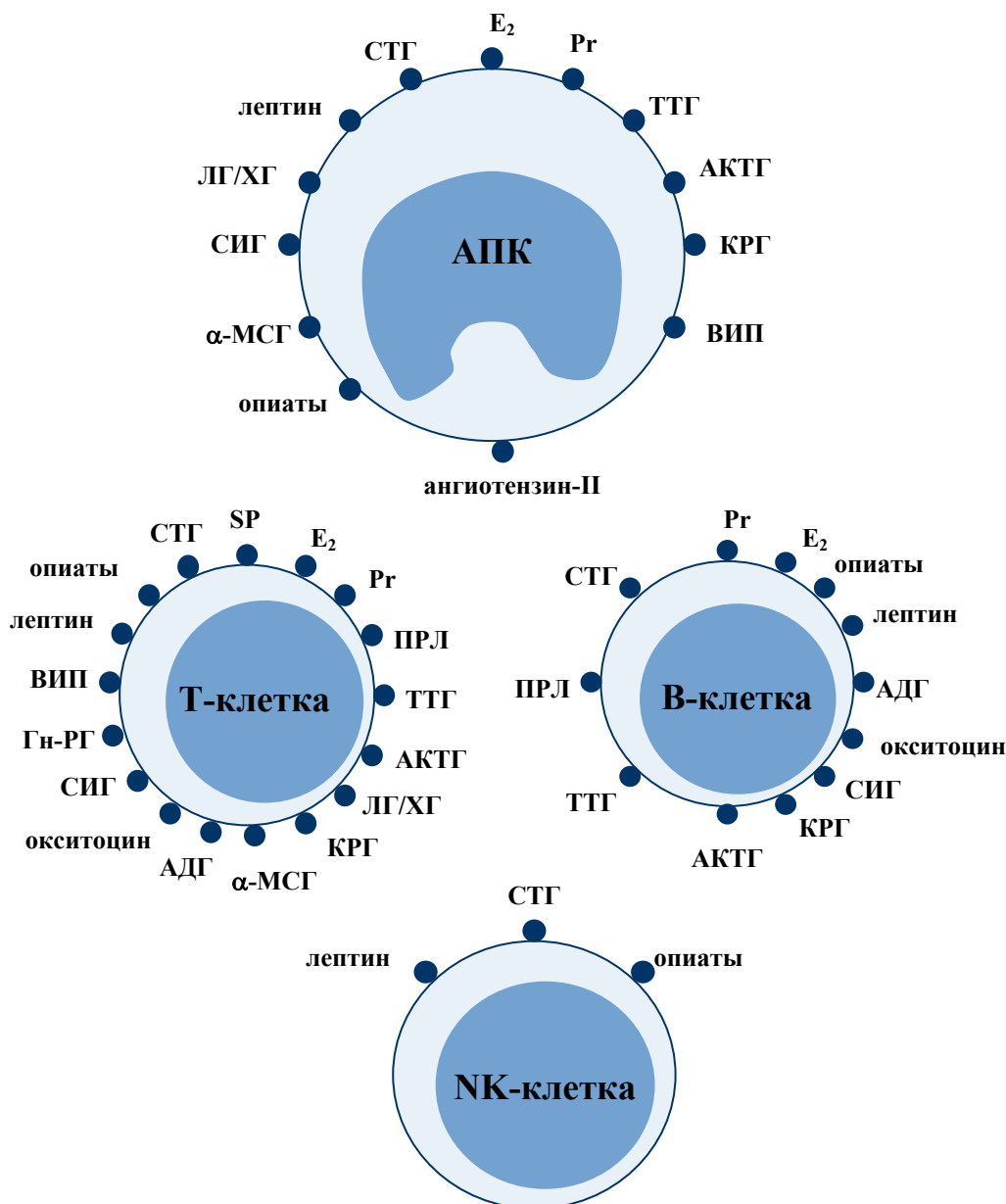


Рис. 1. Гормональные рецепторы, экспрессируемые на основных клетках иммунной системы
 Примечание: АДГ – антидиуретический гормон, АКТГ – адренокортикотропный гормон, СИГ – соматостатин, СТГ – соматотропный гормон, SP – субстанция P. Остальные сокращения расшифрованы в тексте

ет способность плацентарных гормонов регулировать функцию иммунной системы матери во время беременности таким образом, чтобы зародыш не был отторгнут, а, напротив, успешно развивался.

Любой иммунный ответ всегда трансформируется либо в гуморальный тип

мых ими цитокинов (молекул-регуляторов). Существует два основных типа Th – Th1 и Th2. Th1 клетки формируют клеточный тип ответа, а Th2 – гуморальный. Сами Th превращаются (поляризуются) из Th0 стадии своего развития в 1-й или 2-й тип благодаря антиген-презентиру-

щим клеткам (АПК) и их цитокинам (рис. 2).

Доминирование Th1-клеток приводит к клеточно-опосредованным иммунным ответам, заканчивающимся разрушением клеток, несущих признаки чужеродности и, следовательно, потенциально опасным

для зародыша. Доминирование Th2-клеток приводит к формированию гуморального ответа, препятствующего распознаванию антигенных структур на клетках зародыша и одновременно усиливающего рост плода и плаценты. Данный тип реагирования является основным при бере-

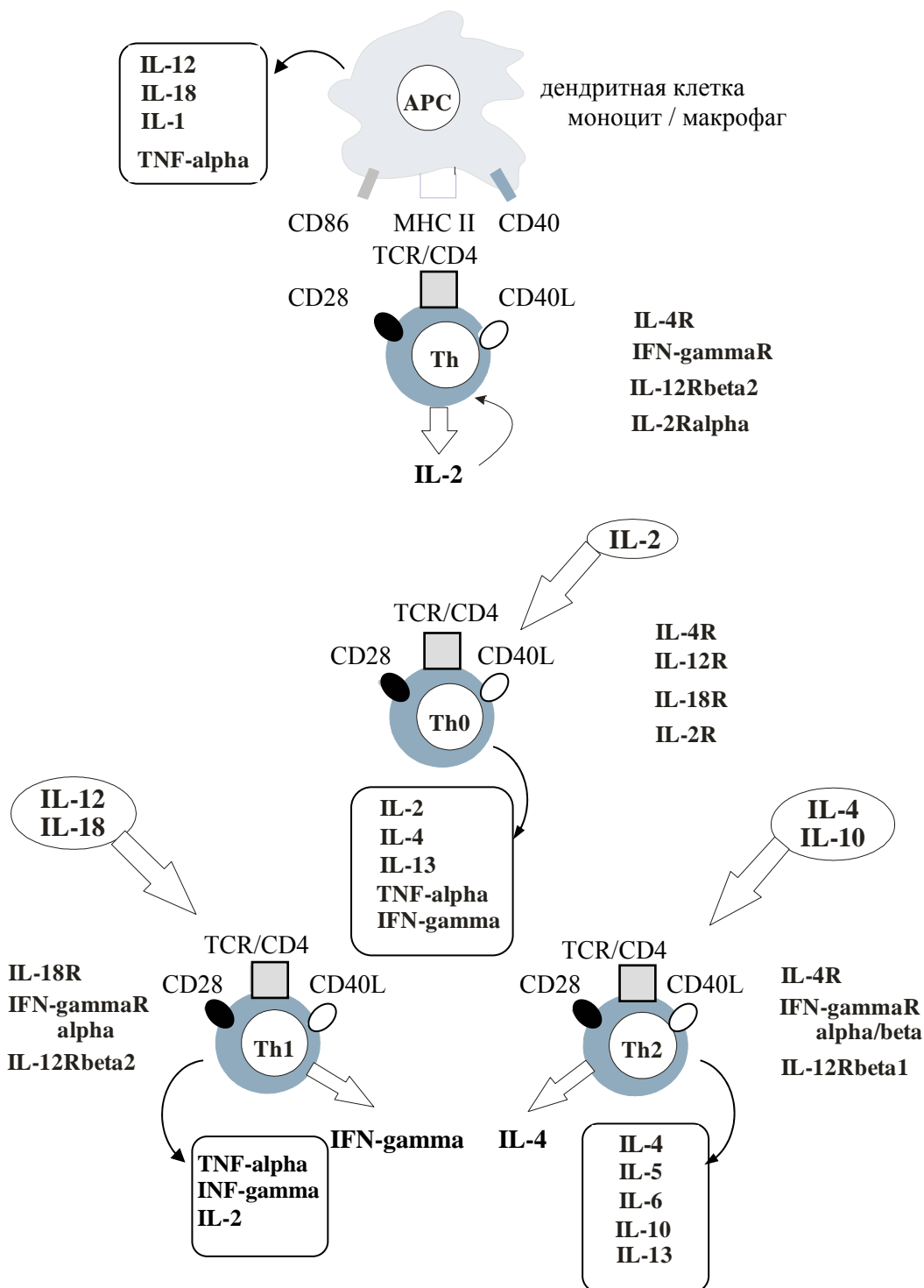


Рис. 2. Основные механизмы, принимающие участие в Th1/Th2-поляризации
Примечание: здесь и далее: APC – антиген-презентирующая клетка; CD28, CD86, CD40, CD40L – коstimулирующие молекулы; IFN – интерферон; IL – интерлейкин; R – рецептор; TCR/CD4 – клеточно-рецепторный комплекс лимфоцитов-хелперов; TNF – фактор некроза опухолей

менности и прогрессе онкологических заболеваний. Антитела, призванные при инфекции элиминировать патоген, экранируют специфические антигены плаценты от цитотоксических реакций и усиливают рост трофобласта. Важно отметить, что Th2 конкурируют с Th1, взаимно подавляя активность друг друга.

Таким образом, возникает иммунопротективный эффект, который обеспечивает развитие плода в утробе матери. Клетки плаценты за счет гормонов беременности и цитокинов создают условия Th2-поляризации, блокируя все цитотоксические реакции в интерфазе мать-плод.

Проведенный нами анализ молекулярных механизмов трансдукции гормональных сигналов на уровне клеток иммунной системы показал, что подавляющее большинство самых распространенных белково-пептидных гормонов беременности в качестве вторичного мессенджера используют циклический аденозин монофосфат (цАМФ), активирующий протеинкиназу А (ПКА). К этим гормонам относятся все гонадотропные гликопротеиновые гормоны, лютеинизирующий гормон (ЛГ), фолликулостимулирующий гормон (ФСГ) и хорионический гонадотропин (ХГ), окситоцин, вазоинтестинальный пептид (ВИП), адренокортикотропный гормон (АКТГ), кортиколиберин (КРГ), α -меланоцит стимулирующий гормон (α -МСГ), релаксин и гистогормоны.

Ключевым этапом цАМФ-зависимой сигнальной гормональной трансдукции на уровне Т-лимфоцитов, является активация аденилатциклазы (Ац) и конвертирование АТФ в цАМФ, что приводит к активации ПКА. Главным событием этого процесса является фосфорилирование транскрипционных факторов CREB (цАМФ-отвечающий элемент-связывающий белок). Именно CREB взаимодействует с цАМФ-отвечающими участками ДНК клеток-мишеней – цАМФ-отвечающий элемент (CRE). CRE-последовательность присутствует в промоторах цитокиновых генов. Взаимодействие CREB с CRE и приводит к дифференцированной экспрессии цитокиновых генов, определяющих Th2-поляризацию. В частности,

CREB активирует цАМФ-индуцируемый ранний репрессор – ICER, который один или в комплексе с NFAT (ядерный фактор активации Т-лимфоцитов) связывается с NFAT/AP-1-сайтами ДНК Т-лимфоцита и нарушает транскрипцию провоспалительных Th1-цитокиновых генов. Одновременно активируется транскрипция гена IL-4 основного цитокина Th2, способствующего жизнеспособности плода. Кроме того, ПКА препятствует активации и пролиферации Т-лимфоцита за счет снижения фосфорилирования γ - и ϵ -цепей молекулы CD3, а также блокирования активности протеинкиназ p56, ZAP70 и фосфолипазы C γ (PLC γ) (рис. 3). Все это приводит к снижению продукции антигенпримированным Т-хелпером IL-2 и его рецептора, что нарушает пролиферацию и клональную экспансию Т-клетки, активированной фетальным антигеном. В то же время IL-4 стимулирует рост плаценты и усиливает эффект гормональной Th2-поляризации.

Известно, что основной клеткой-мишенью для гормонов беременности являются не только Т-лимфоциты, но и АПК, а именно моноциты/макрофаги, которые определяют процесс дивергенции Th1/Th2. Особенностью этих клеток является то, что они в больших количествах экспонируют на своей поверхности паттерн-распознающие рецепторы или Toll-подобные белки (TLR), большая часть которых взаимодействует с липополисахаридом (ЛПС) бактерий. Нами установлено, что основной гормон беременности – ХГ способен взаимодействовать с TLR, которые имеют гомологичные участки с рецептором ХГ/ЛГ и располагаются во внеклеточном домене, богатом лейциновыми повторами. Рецепция через TLR приводит к блокаде синтеза провоспалительных цитокинов, активируя IFN- α , который наряду с цитокинами Th2-типа оказывает фетопротективное действие. Этот путь трансдукции активирует белок, который получил название Trif или Ticam-1. Кроме того, параллельно ХГ угнетает процессы фагоцитоза, опосредуя свой эффект через повышение цАМФ, используя классический рецептор (рис. 4).

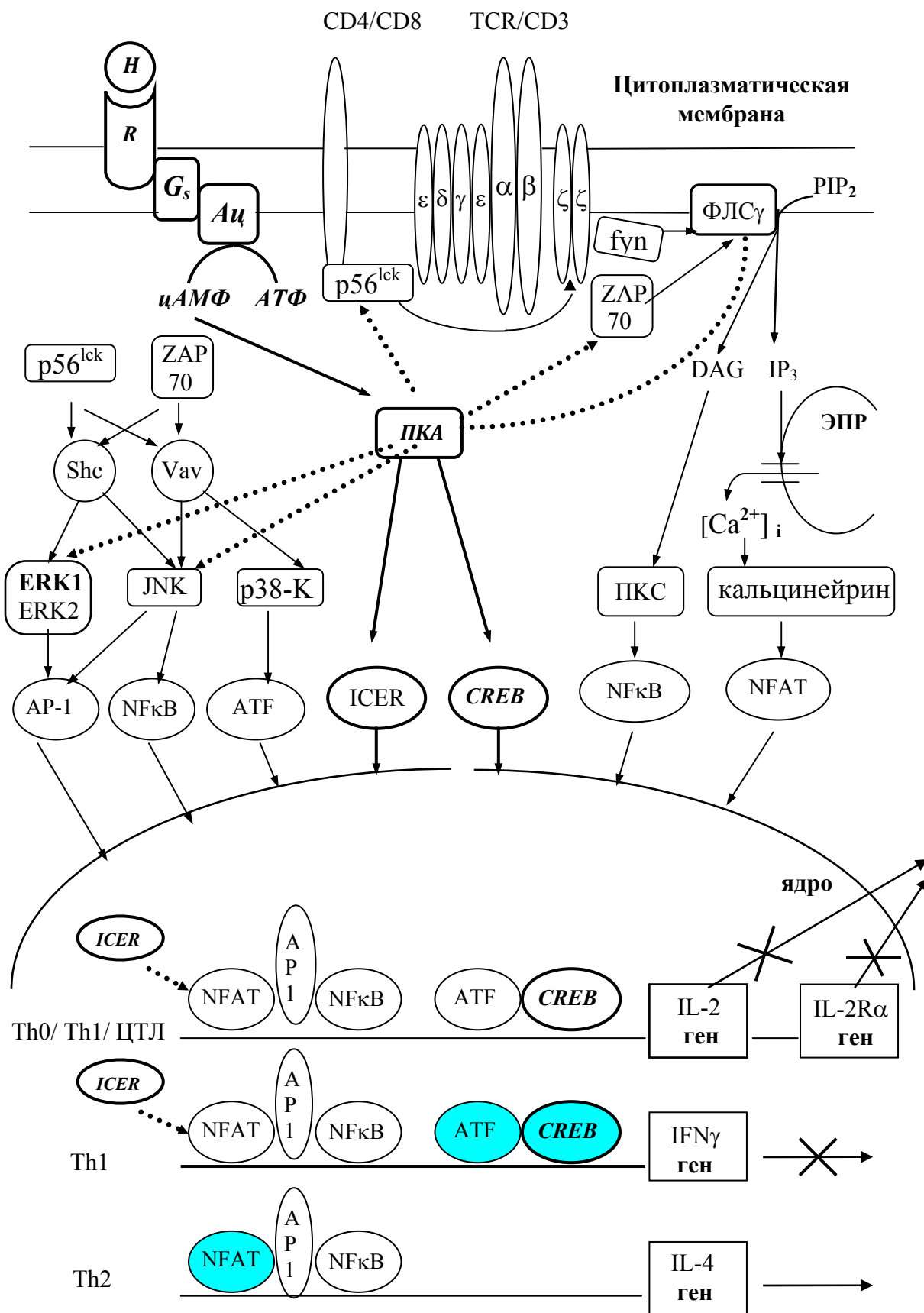


Рис. 3. цАМФ-зависимая регуляция активности Т-клеток
Примечание: сплошные линии – активация, прерывистые – ингибирование

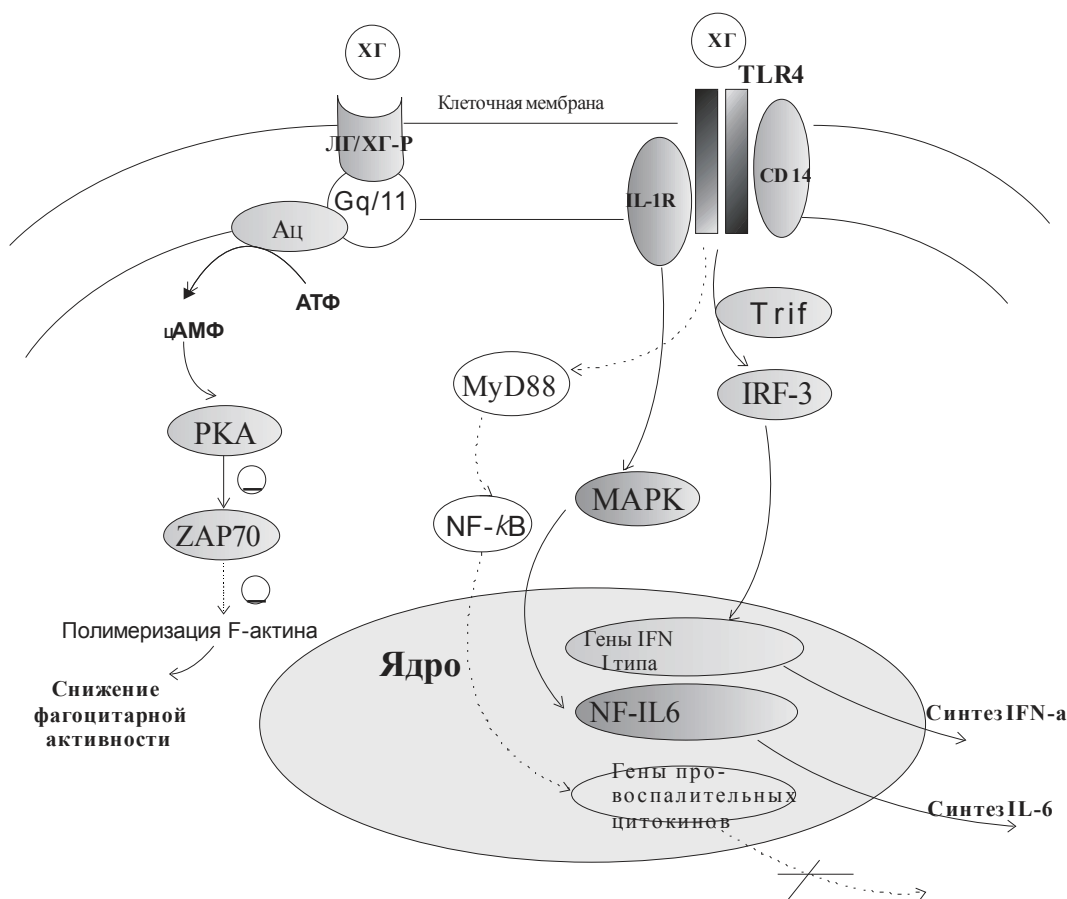


Рис. 4. Возможные механизмы действия высокой дозы ХГ (100 МЕ/мл) на моноциты периферической крови женщин: ЛП/ХГ-Р – рецептор для ХГ и ЛП; Gq/11 – G-субъединица рецептора; Ац – аденилатциклаза; АТФ – аденозинтрифосфат; ZAP70 – принадлежит к семейству syk-киназ, участвует в полимеризации F-актина; IL-1R (ИЛ-1R) – рецептор для ИЛ-1, ассоциированный с TLR4 и CD14; MAPK – митоген-активированные киназы; NF-κB – ядерный фактор; CD14 – маркерный белок моноцитов, связывающий ЛПС; MyD88 (Myeloid differentiation Marker 88) – адаптерный белок, коактиватор сигнала с TLR; NFκB – ядерный фактор κB; Trif – адаптерный белок, участвующий в индукции IRF3; IRF-3 (Interferon regulatory factor 3) – транскрипционный фактор; Ø – снижение активности ферментов. Пунктирными стрелками обозначен внутриклеточный путь, приводящий к MyD88-зависимому синтезу провоспалительный цитокинов. Сплошными стрелками показан внутриклеточный путь, приводящий к синтезу ИЛ-6 и ИИФ-α

Таким образом, ХГ в высоких концентрациях, когда достаточно молекул для лигирования не только высокоаффинных специфических цАМФ-повышающих рецепторов, но и рецепторов плейотропного лигирования – TLR, приводит к снижению функциональной активности моноцитов и переключению типа их цитокинового ответа с Th1 на Th2. В условиях появления ЛПС, т.е. инфекции, ХГ способен оказать фетопротективное действие, причем оно наиболее эффективно в конце I – начале II триместра, когда концентрация гормона наибольшая.

Другими важными гормонами, опре-

деляющими тип реакции иммунной системы при беременности, являются половые стероиды, концентрация которых на три порядка выше обычного уровня. Речь, прежде всего, идет о прогестероне (Pr), название которого как раз и говорит о его поддержке гестации, т.е. беременности. Для проявления геномных (классических) эффектов требуется время, поскольку все они связаны с синтезом белка, а для негеномных (срочных) эффектов достаточно секунд и минут. Часто именно эти секунды и решают судьбу оплодотворенной яйцеклетки.

Как установлено, основной эффект Pr

заключается в супрессии провоспалительных реакций врожденного и адаптивного иммунитета. Самостоятельное действие гормона на уровне иммунцитов реализуется благодаря экспрессии специфических рецепторов Pr (PR). Депрессия иммунных механизмов осуществляется негеномным механизмом, заключающимся в блокировании Ca^{2+} -зависимых трансдукторов Т-клеток, что приводит к снижению активности NFAT, который необходим для транскрипции генов провоспалительных цитокинов, в частности IL-2. Одновременно Pr усиливает экспрессию цитокинов Th2 типа, таких как IL-4 и IL-10, а также индуцирует экспрессию молекул CD30, появление которой коррелирует с Th2-поляризацией.

Помимо непосредственных эффектов Pr индуцирует синтез прогестерон-индуцированного блокирующего фактора (PIBF) CD8⁺ Т-клетками, который угнетает цитолитические клеточные реакции со стороны материнских лимфоцитов, ингибируя экспрессию IL-12. Эффекты этого протеина включают как блокирование активности НК-клеток и натуральной цитотоксической активности лейкоцитов периферической крови у мышей и человека, так и индукцию клеток супрессорного фенотипа и функций. PIBF непосредственно блокирует активность НК-клеток *in vitro* и поэтому предотвращает аборт при высокой активности этих клеток у мышей, внося существенный вклад в поддержание нормальной гестации.

Экспрессия молекул PIBF на лимфоцитах беременных показала обратную корреляцию с активностью НК-клеток и прямую корреляционную зависимость от уровней ХГ при ранней беременности. Необходимо отметить, что у здоровых беременных женщин процент PIBF-положительных лимфоцитов в периферической крови значительно выше, чем у женщин с риском преждевременного прерывания беременности. В экспериментах на мышах установлено, что PIBF ингибирует экспрессию IL-12 в активированных лимфоцитах и повышает продукцию IL-10 клетками селезенки (рис. 5). Учитывая, что Pr оказывает самостоятельное IL-4

стимулирующее действие, картина иммуномодуляции этого гормона при беременности существенно расширяется и выходит за рамки эффектов, которые опосредуются самим Pr.

Эстрогены, в отличие от прогестинов, модулируют функцию иммунной системы более широко, захватывая процессы антиген независимой дифференцировки в тимусе и костном мозге, и антиген зависимой активности как на системном уровне, так и в маточном компартменте. Каждый уровень имеет свои особенности микроокружения, которые влияют на направленность иммуномодулирующих эффектов половых стероидов. Аналогично Pr, эстрадиол (E_2) индуцирует продукцию высоких концентраций белков беременности, обладающих специфичным иммунодепрессивным действием. К таким белкам относятся ассоциируемые с беременностью $\alpha 2$ -гликопротеин ($\alpha 2$ -PAG) и $\alpha 2$ -макроглобулин ($\alpha 2$ -PAM). Таким образом, эстрогены оказывают двойное регулирующее действие на клетки иммунной системы матери в период гестации: опосредованно, через индукцию синтеза иммунорегуляторных белков зоны беременности, и непосредственно модулируя процессы транскрипции в иммунокомпетентных клетках.

В период беременности E_2 приводит к выраженной атрофии тимуса, вследствие чего тимический компартмент остается исключительно с самой ранней, незрелой популяцией тимоцитов. Повышение уровня эстрогенов при гестации вызывает также 50 %-ное снижение предшественников В-лимфоцитов в костном мозге, что связано с модуляцией функциональной активности клеток стромального микроокружения.

На системном уровне направленность эффектов эстрогенов в большей степени зависит от концентрации самих стероидов. Большое количество сайтов связывания E_2 на цитоплазматической мембране моноцитов приводит к повышению уровня $[Ca^{2+}]_i$ с последующей стимуляцией конститутивной (с) NO-синтазы (NOS). Аналогично, в ответ на E_2 нейтрофилы через $ER\alpha/Ca^{2+}$ -мессенджерную систему

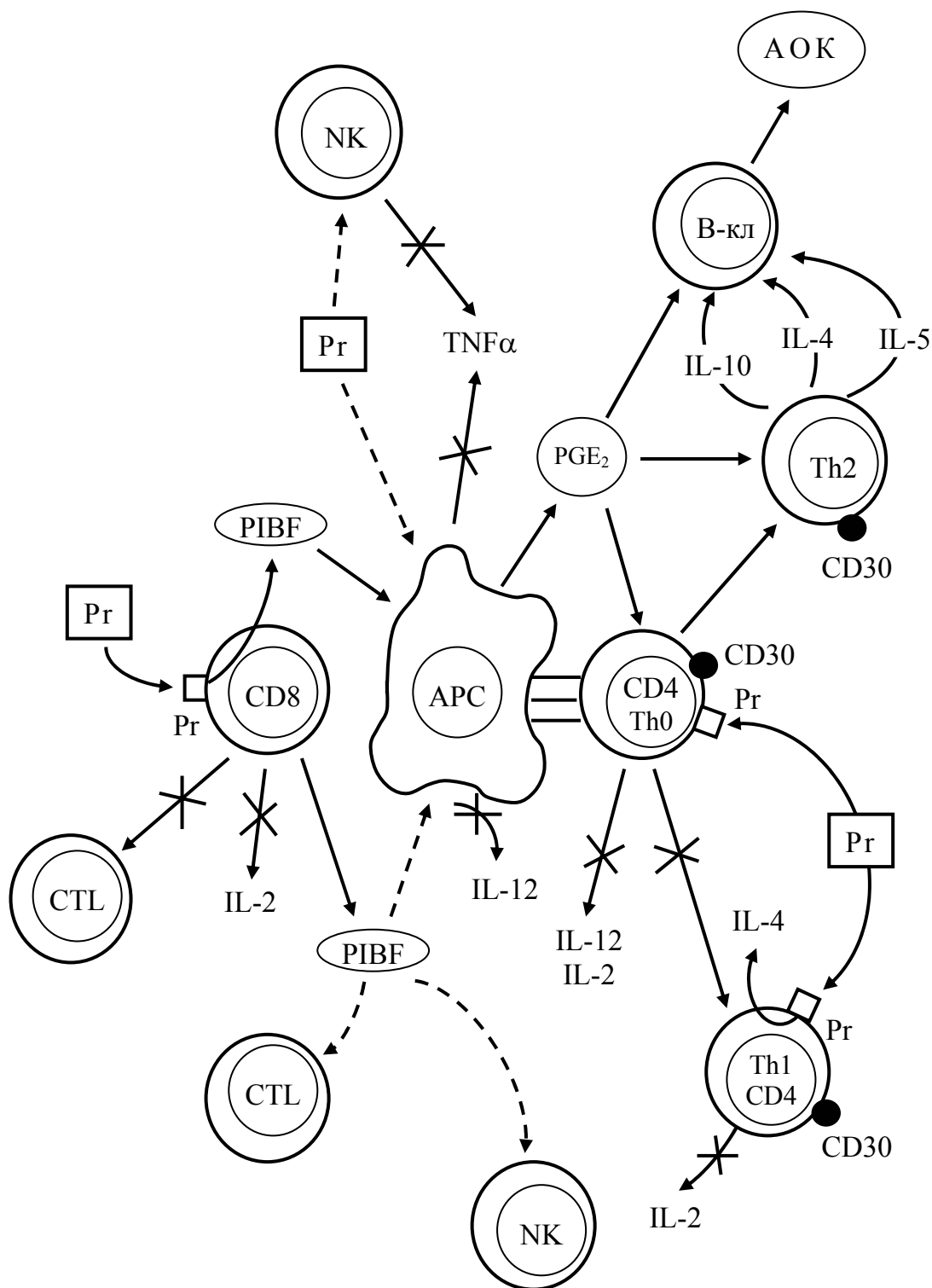


Рис. 5. Схематическое изображение иммуномодулирующих механизмов Pr и PIBF в период физиологически протекающей беременности. Примечание: сплошные линии – активация, прерывистые – ингибирование

повышают активность iNOS. Усиление выработки NO моноцитами и нейтрофилами является одним из негеномных механизмов эстроген-опосредованной иммуносупрессии при беременности. Снижение экспрессии E-селектина также препятствует развитию воспалительного ин-

фильтрата, а угнетение ЛПС-индуцированных IL-1α, IL-6 и TNF-α, существенно дополняет картину E₂-депрессивных эффектов.

Механизм ингибирования также связан с негеномным действием стероида, а именно с угнетением активности NF-κB.

Важно отметить, что E_2 модулирует цитокинный спектр в прямой зависимости от собственной концентрации, низкие дозы эстрогенов стимулируют выработку $TNF-\alpha$, а высокие (более 10 нг/мл) – блокируют. В физиологических концентрациях E_2 стимулирует дифференцировку В-лимфоцитов в IgG- и IgM-секретирующие клетки, что связано с угнетением функциональной активности Th1-клонов.

Необходимо отметить еще один важный аспект иммуномодулирующих эффектов репродуктивных гормонов: совместное действие ХГ и половых стероидных гормонов. Нами были отслежены данные эффекты на уровне Т-клеток и нейтрофилов.

На уровне Т-клеток действие ХГ, свя-

занное с активацией цАМФ-зависимого пути трансдукции гормонального сигнала, является и стимулирующим (в отношении продукции IL-4), и ингибирующим (в отношении продукции $IFN-\gamma$, а также пролиферации, для которой необходимым условием является синтез и секреция IL-2). Реализация эффектов E_2 и Pr в Т-клетках осуществляется двумя путями: геномным – через ядерные рецепторы, и негеномным – через мембранные. При этом геномные эффекты стероидов могут быть как ингибирующими (в отношении пролиферации), так и стимулирующими (в отношении продукции IL-4), тогда как негеномные – только стимулирующими (рис. 6).

При совместном действии ХГ и поло-

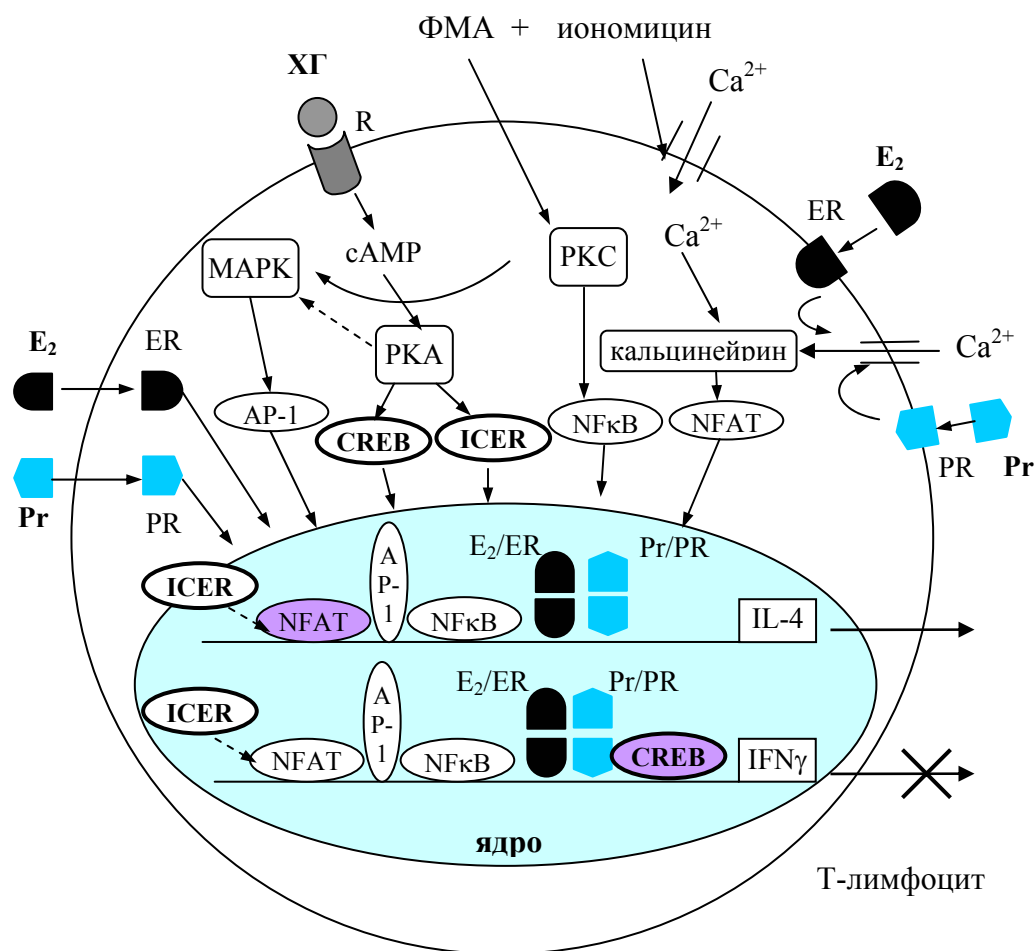


Рис. 6. Потенциальные механизмы гормонального контроля экспрессии Т-лимфоцитами цитокиновых генов: ЭПР – эндоплазматический ретикулум, E_2 – эстрадиол, ER – рецептор для эстрадиола ядерный, ERm – рецептор для эстрадиола мембранный, $IFN\gamma$ – интерферон γ , IL-4 – интерлейкин 4, LR – лектиновый рецептор (для ФГА), Pr – прогестерон, PR – рецептор для прогестерона ядерный, PRm – рецептор для прогестерона мембранный, R – рецептор для ХГ. Сплошные линии – активация, прерывистые – ингибирование

вых стероидов наблюдается усиление дифференцировки и активация интактных Т-клеток, и в то же время угнетение пролиферации и апоптоза стимулированных Т-клеток с одновременным повышением продукции цитокинов Th2-типа. Важно, что все перечисленные эффекты гормоны проявляли только в сочетании, отражающем концентрации гормонов в I триместре, когда клетки плода начинают экспрессировать антигены отца (рис. 7).

стимулирующее и реализуется негеномным путем, за счет активации кальциевого сигнала (рис. 8).

Результатом совместного действия гормонов является снижение апоптоза, а также усиление окислительного потенциала интактных и слабостимулированных нейтрофилов, но при этом угнетение фагоцитарной и окислительной активности этих клеток в случае их интенсивной стимуляции. Все выявленные эффекты в

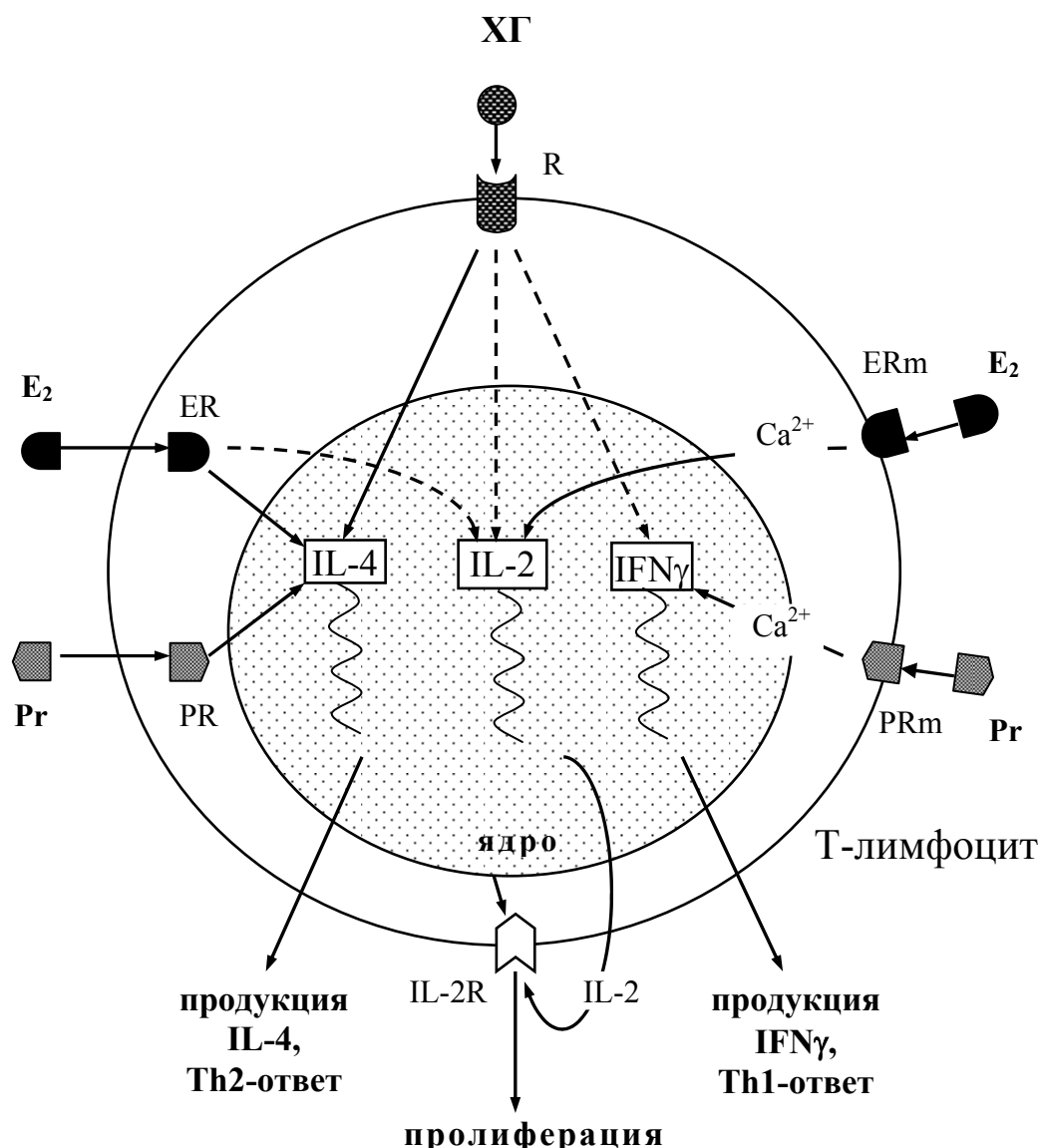


Рис. 7. Потенциальные механизмы регуляции активированных Т-лимфоцитов репродуктивными гормонами: сплошные линии – активация, прерывистые – ингибирование

На уровне фракционированных нейтрофилов действие ХГ на фагоцитоз и окислительную активность имеет ингибирующий характер и реализуется за счет повышения уровня цАМФ, тогда как действие стероидных гормонов, напротив,

отношении нейтрофилов гормоны проявляли только в комбинации доз, экстраполированных со средних концентраций гормонов III триместра беременности, что особенно важно, учитывая их прямое действие на инициацию родовой деятель-

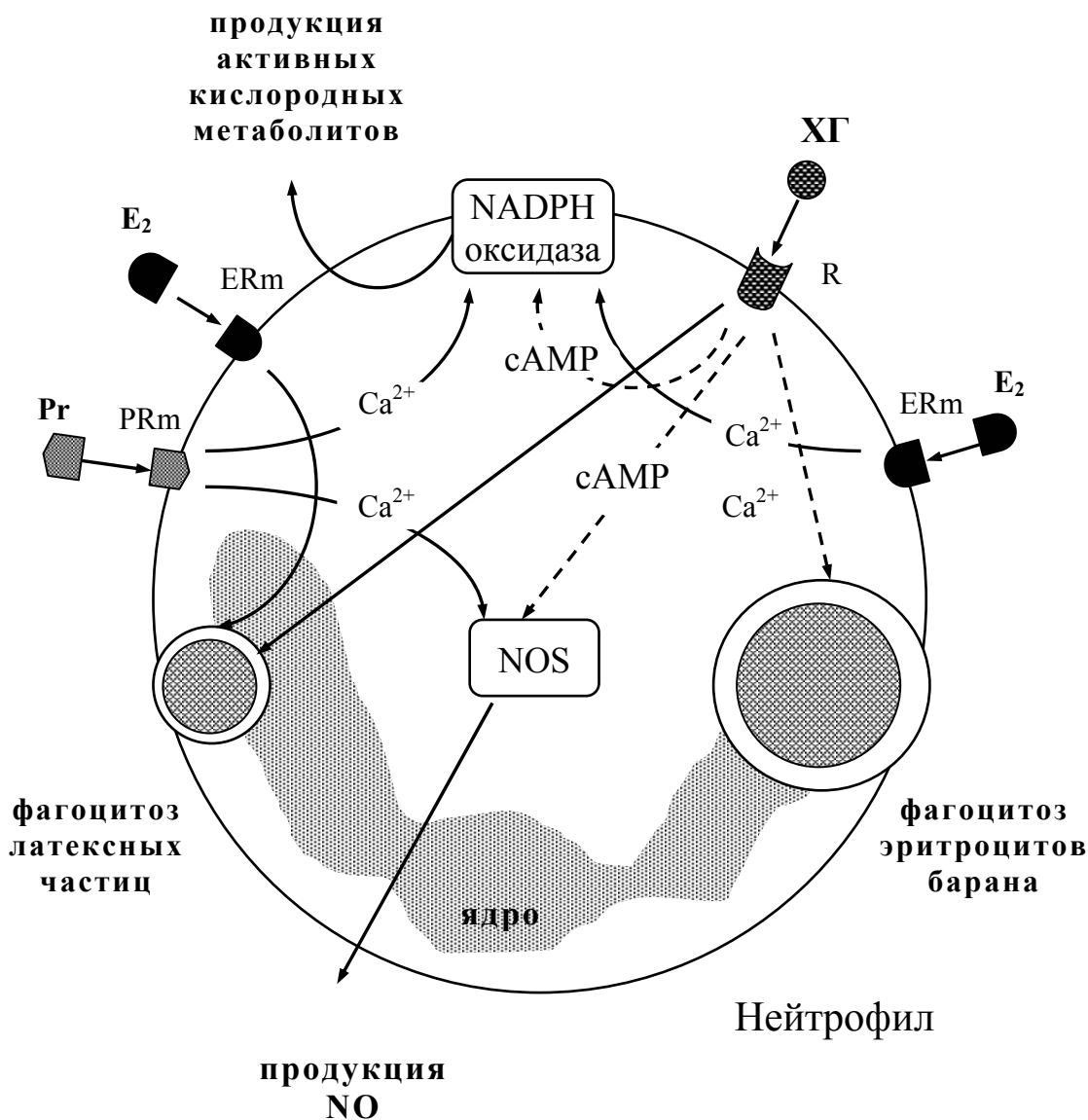


Рис. 8. Возможные механизмы регуляции активности нейтрофилов репродуктивными гормонами: сплошные линии – активация, прерывистые – ингибирование

ности.

Таким образом, гормоны репродукции в период физиологически протекающей беременности в зависимости от срока гестации и, следовательно, соответствующих концентрационных комбинаций способны либо усиливать, либо нивелировать действия друг друга, а то и вовсе создавать новые, ранее неизвестные эффекты.

Анализируя полученные результаты, мы определили 4 типа взаимодействия основных гормонов репродукции на клетки иммунной системы.

Первый тип взаимодействия ХГ и стероидных гормонов заключается в реализации всеми гормонами самостоятельных эффектов, которые не интерферируют

друг с другом (рис. 9).

Второй, наиболее распространенный тип взаимодействия – нивелирование или полная отмена самостоятельных эффектов гормонов при их совместном действии (рис. 10).

Третий тип взаимодействия заключается в том, что при отсутствии эффектов у отдельных гормонов их совместное действие формирует новый регуляторный сигнал, модулирующий определенные функции (рис. 11).

Четвертый тип регуляции характеризуется изменением направленности действия одного из гормонов под влиянием других: например, изменение стимулирующего действия ХГ на ингибирующее

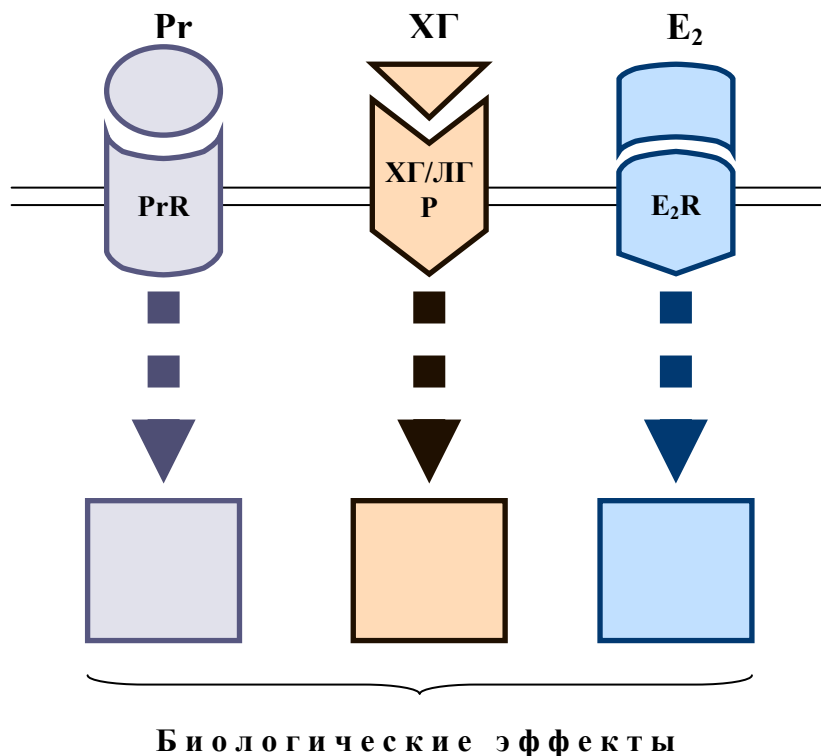


Рис. 9. Эффекты XG не изменяются на фоне эстрадиола и прогестерона

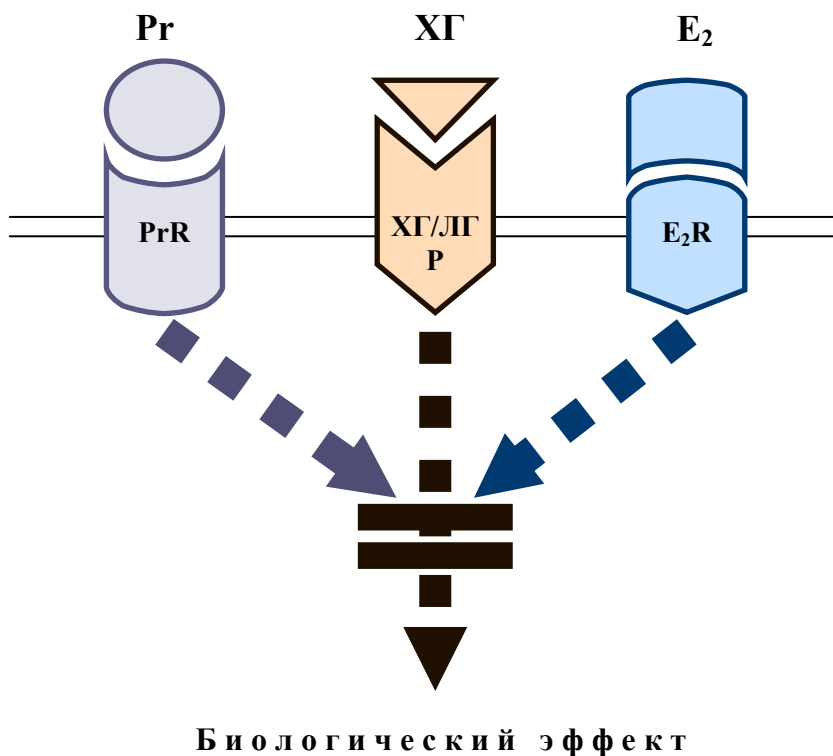


Рис. 10. Нивелирование эффектов XG женскими половыми стероидами

в присутствии стероидных гормонов (рис. 12).

Резюмируя вышеизложенное, необходимо отметить, что гормоны репродукции оказывают выраженное иммунорегу-

лирующее действие на клетки иммунной системы матери, формируя Th2-функциональный фенотип, который способствует нормальному развитию беременности. Данный феномен базируется на механиз-

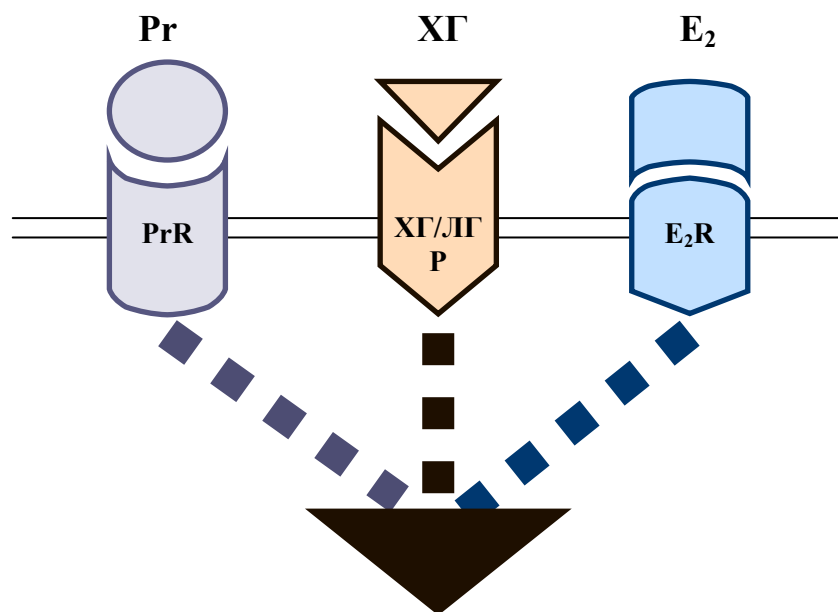


Рис. 11. Эффекты комбинации ХГ и стероидных гормонов при отсутствии отдельных гормональных эффектов

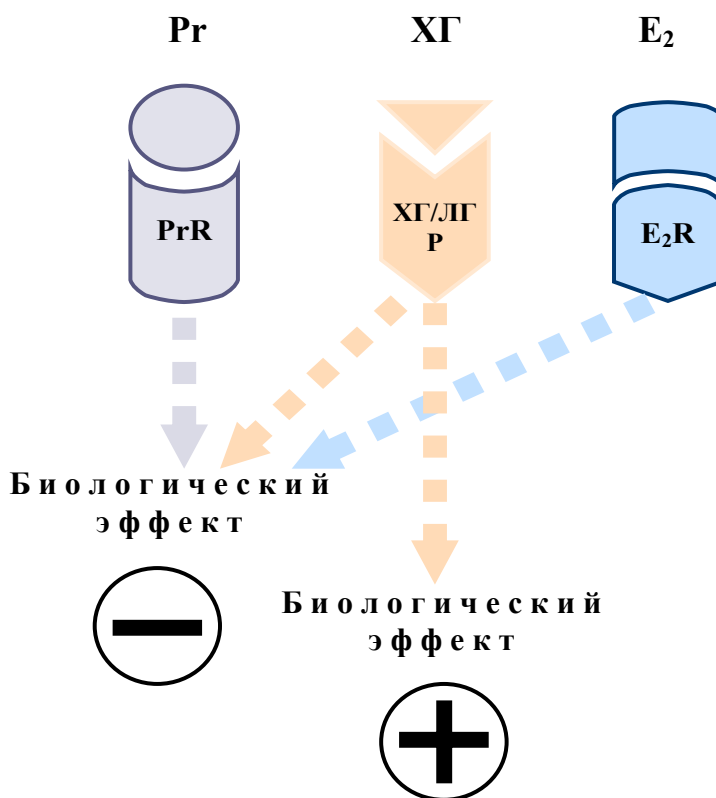


Рис. 12. Изменение эффекта ХГ на противоположный в присутствии стероидных гормонов

мах стимуляции аденилатциклазной системы, специфически репрессирующей гены цитокинов Th1-типа и активирующей

экспрессию цитокиновых генов Th2-фенотипа. Данные эффекты связаны не только со специфическим лигированием,

но и с возможностью взаимодействия с гомологичными молекулами TLR. Половые стероидные гормоны, в отличие от белковопептидных, реализуют свои фетопротективные иммуномодулирующие действия как непосредственно при взаимодействии со специфическими рецепторами, так и опосредованно, через продукцию белков беременности. При этом долгосрочные геномные эффекты стероидов имеют, как правило, депрессивный характер, а негеномные – стимулирующий. Направленность эффектов при совместном действии белковопептидных гормонов и стероидов определяется их концентрацией, т.е. триместром беременности, и часто носит взаимонивелирующий характер. При этом общий вектор направленности точно совпадает со стратегией развития беременности как физиологического феномена (рис. 13).

время повышают резистентность организма в отношении возможных патогенов. Таким образом, иммунная система в период беременности даже более реактивна и мобильна по сравнению с таковой у небеременных.

В условиях интенсивного иммунного ответа стимулирующие эффекты гормонов изменяются на противоположные (исключение составляет только активация Т-хелперов 2-го типа). В результате блокируется продукция Th-1-цитокинов, повышение уровня которых могло бы привести к изменению цитокинового баланса в плодно-материнской интерфазе и инициировать выкидыш, и повышение относительного уровня Th2-цитокинов, оказывающих трофическое действие на плаценту и плод. Кроме того, за счет угнетения активности нейтрофилов предупреждается деструкция плацентарных тканей ки-

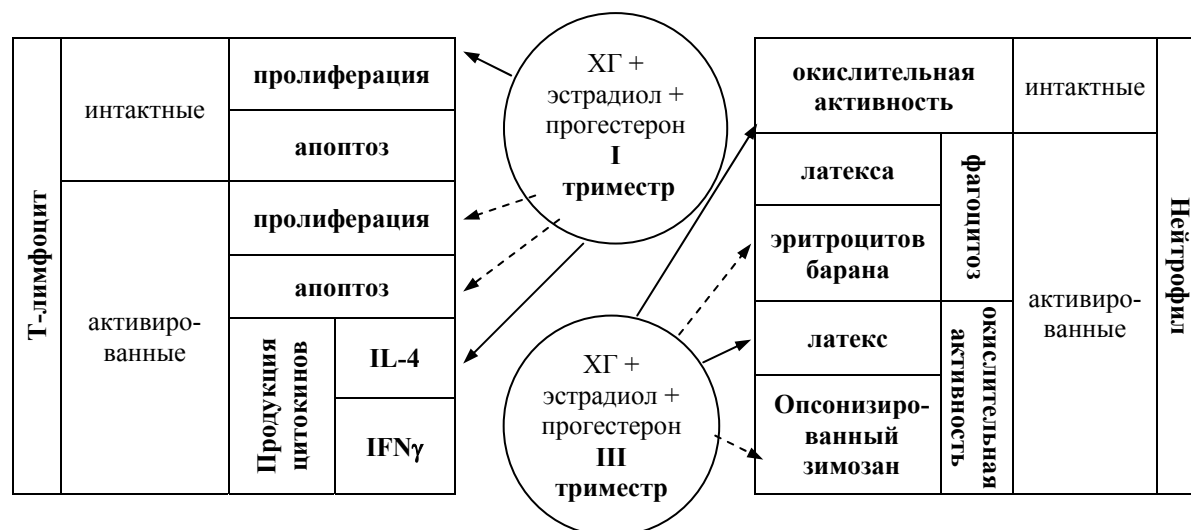


Рис. 13. Гормоны репродукции в регуляции функциональной активности Т-лимфоцитов и нейтрофилов: сплошные линии – активация, прерывистые – ингибирование

Исходя из вышеизложенного, можно предложить следующую схему гормональной регуляции иммунной системы при беременности (рис. 14). В отсутствие патогена гормоны фетоплацентарного комплекса оказывают стимулирующее действие как на Т-лимфоциты, так и на нейтрофилы. Продукты активированных лейкоцитов цитокины, а также кислородные метаболиты и гранулярные ферменты нейтрофилов при такой незначительной активации, по-видимому, не представляют опасности для плода, но в то же

слородными метаболитами и гранулярными ферментами. Однако при этом снижается и резистентность организма, особенно в отношении инфекций, ответ на которые требует активации клеточно-опосредованных (Th1-зависимых) реакций.

В целом, благодаря сбалансированному действию гонадотропина и женских половых стероидов формируется определенный уровень активации адаптивных и неспецифических защитных реакций организма, оптимальный для разных периодов беременности и разных уровней ак-

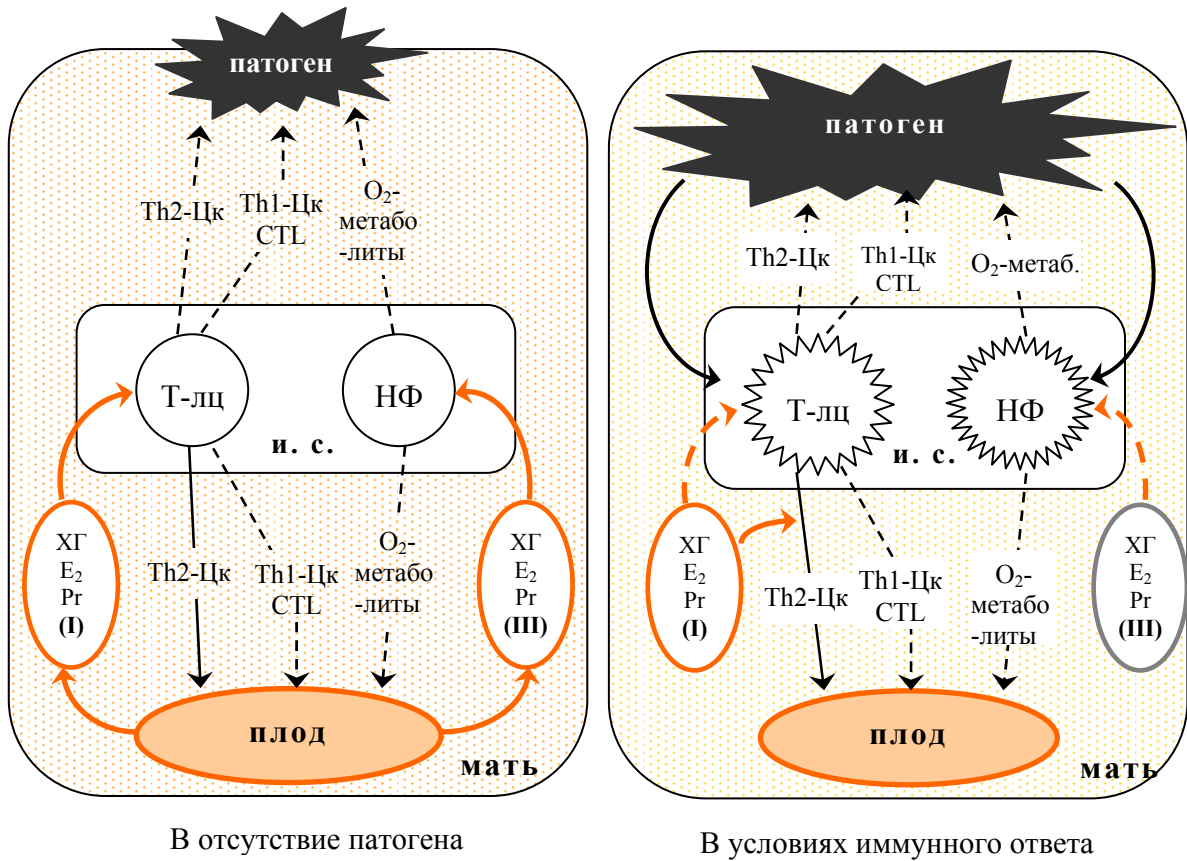


Рис. 14. Потенциальные механизмы регуляции иммунной системы при беременности. Примечание: НФ – нейтрофилы, Цк – цитокины, CTL – цитотоксические T-лимфоциты. Сплошные линии – активация, прерывистые – ингибирование

тивности иммунной системы.

Таким образом, полученные нами новые фундаментальные данные относительно регуляции иммунной системы гормонами беременности вскрывают ранее неизвестные закономерности и механизмы регуляции при появлении в организме беременной женщины чужеродного для

нее плода. Данные механизмы важны не только с позиции правильного ведения рожениц, но и для оценки состояния и лечения гормон зависимых опухолей. Кроме того, использование новых знаний позволит разработать новые подходы в коррекции иммунной системы при трансплантации органов и тканей.