

Невынашивание беременности как проблема иммунного конфликта

К.м.н., доц. О.П. ЛЕБЕДЕВА^{1*}, асп. О.Н. ИВАШОВА¹, д.м.н., доц., зав. каф. С.П. ПАХОМОВ¹,
д.м.н., проф., зав. каф. П.В. КАЛУЦКИЙ², к.м.н., доц. Н.В. СУХИХ¹

¹ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» Белгород, Россия, 308015; ²ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Курск, Россия, 305041

Обзор литературы посвящен проблеме невынашивания беременности и роли системы врожденного иммунитета в патогенезе данного осложнения. Дана оценка влияния Толл-подобных рецепторов на местную иммунореактивность на ранних сроках беременности.

Ключевые слова: Толл-подобные рецепторы, невынашивание беременности, микробиоценоз женских половых путей.

Miscarriages as a result of immune conflict

O.P. LEBEDEVA¹, O.N. IVASHOVA¹, S.P. PAKHOMOV¹, P.V. KALUTSKY², N.V. SUKHIN¹

¹Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia, 308015; ²Kursk State Medical University, Kursk, Russia, 305041

A review is devoted to the problem of miscarriages and its relation with immunity of female reproductive tract. Toll-like receptors expression and its influence on inflammation at early stages of pregnancy are described.

Key words: Toll-like receptors, vaginal microbiocenosis, miscarriages.

Невынашивание беременности ранних сроков представляет собой актуальную проблему современного акушерства, так как является полиэтиологическим состоянием, объединяющим различные нарушения как в репродуктивной системе, так и в организме женщины в целом [1]. Самопроизвольные выкидыши на ранних сроках составляют 15% всех зарегистрированных случаев беременности. При этом до 80% репродуктивных потерь приходится на I триместр [2]. На самом деле число женщин с невынашиванием может быть несколько выше, так как часть самопроизвольных выкидышей происходит еще до обращения женщины к гинекологу в связи с фактом беременности [3]. Около 1–2% женщин страдают привычным невынашиванием беременности. Привычный выкидыш может быть связан с наличием хромосомных аномалий, тромбофилических состояний у матери [4], а также с иммунными и эндокринными нарушениями, однако в 50% случаев причина выкидыша оказывается неустановленной [5]. Поэтому изучение причин невынашивания беременности до сих пор является одной из актуальных проблем в акушерстве и гинекологии.

Среди причин преждевременного прерывания беременности одно из лидирующих мест занимают воспалительные заболевания [6].

Доказательством роли хронического эндометрита в генезе самопроизвольных выкидышей раннего срока также является тот факт, что женщины с хроническим эндометритом имеют достоверно более низкую частоту имплантации эмбриона по сравне-

нию с пациентками с нормальным эндометрием (11 и 58% соответственно) [7].

Однако диагностика хронического эндометрита в настоящее время представляет собой значительные трудности. В настоящее время для этого используется комплекс клинико-анамнестических данных, а также данных биопсии эндометрия, полученных при аспирационной биопсии или диагностическом выскабливании слизистой полости матки под контролем гистероскопии. При этом диагностическая ценность гистологического исследования для диагностики хронического эндометрита и прогноза невынашивания беременности не установлена [8]. В большинстве случаев при обнаружении хронического эндометрита, являющегося причиной невынашивания, специфический возбудитель определить не удастся, что свидетельствует о неспецифическом характере воспаления в связи с изменениями местной иммунореактивности [9].

Рассматривая плодово-материнские взаимодействия с точки зрения иммунного ответа, следует подчеркнуть, что взаимодействие матери и плода является иммунологически уникальным, так как должно обеспечивать толерантность к аллогенному плоду и в то же время поддерживать защиту от возможных патогенов. Клинические исследования показали сильную взаимосвязь внутриматочной бактериальной и вирусной инфекции и таких осложнений беременности, как выкидыши, преждевременные роды, задержка внутри-

*e-mail: Safonova2@yandex.ru

утробного развития плода и поздний гестоз [10]. Таким образом, воспалительный ответ может оказывать огромное влияние на течение беременности.

Слизистая оболочка женских половых путей является сложной системой, уникальность которой заключается в способности сохранять баланс между необходимостью адекватного иммунного ответа на патоген и иммунологической толерантностью к собственной микрофлоре и антигенам развивающегося плода. Механизмы антиинфекционной защиты слизистой половых органов и влияние на нее эндо- и экзогенных факторов изучены недостаточно.

Быстрый иммунный ответ на инфекционный агент развивается благодаря факторам врожденного иммунитета, который представляет собой наследственно закрепленную систему защиты от патогенов, обеспечивающую распознавание и элиминацию патогенов в первые часы после их вторжения и выработку сигналов, обуславливающих формирование специфического иммунного ответа [11].

Система врожденного иммунитета включает эпителиальный барьер, гуморальные факторы (система комплемента, лизоцим, растворимые белки — сурфактанты, дефензины, лизоцим), клеточные элементы (естественные киллеры, макрофаги, дендритные клетки, нейтрофилы) [12].

Эпителиальные клетки слизистой оболочки женских половых путей являются ключевым элементом системы врожденного иммунитета и первой линией антимикробной защиты. Их функция заключается не только в создании механического препятствия для проникновения патогенов, но и в распознавании структур микроорганизмов, с последующей секрецией цитокинов и запуском процесса воспаления. Распознавание микроорганизмов эффекторами врожденного иммунитета основано на детекции высоко консервативных структур, свойственных большой группе микроорганизмов (бактерий, вирусов, грибов, простейших). Распознавание микроорганизмов системой врожденного иммунитета является пусковым моментом, обеспечивающим успешную защиту от патогенов [13].

Среди сигнальных рецепторов, расположенных на мембранах и в цитоплазме иммунокомпетентных клеток, выделяют образраспознающие рецепторы — Толл-подобные рецепторы (Toll-like receptors — TLR), которые являются основными сигнальными рецепторами и экспрессируются внутриклеточно и на поверхности клетки на нейтрофилах, макрофагах, дендритных клетках, эндотелиальных и эпителиальных клеток, а также натуральных киллерах [14].

Впервые ген, кодирующий TLR, был описан в 1985 г. К. Ньюслайн-Фольхард у дрозофилы. У человека гомологичный ген, кодирующий TLR 4, впервые был описан R. Medzhitov и соавт. [15] в 1997 г.

У млекопитающих описаны 11 типов TLR, из них у человека встречаются 10. Эпителиальные клетки

женских половых путей экспрессируют 10 типов TLR, каждый из которых связывается только со специфичными лигандами [16]. В связи с тем, что TLR врожденного иммунитета являются первыми структурами иммунной системы, контактирующими с лигандами инфекционных агентов и запускающими иммунный ответ, они играют важную роль в патогенезе ряда акушерских и гинекологических осложнений.

Распознавание бактериальных структур (липолисахаридов, липопотеина, флагеллина и т.д.) происходит через активацию TLR1, TLR2, TLR4, TLR5 и TLR6. Четыре типа TLR способны распознавать нуклеиновые кислоты, это — TLR3, TLR7, TLR8 и TLR9. TLR7 и TLR8 распознают собственную и вирусную одноцепочечную РНК, а TLR9 связывает неметилированную ДНК бактерий. TLR3 способен распознавать двухцепочечную РНК вирусов, поэтому данный рецептор играет ключевую роль в противовирусном иммунном ответе [16].

TLR, распознающие структуры клеточной стенки бактерий, экспрессируются преимущественно на поверхности клетки, в то время как TLR3, TLR7, TLR8 и TLR9, способные связываться с нуклеиновыми кислотами, располагаются внутриклеточно на поверхности эндосом. Связывание внутриклеточных рецепторов с лигандами происходит только после их попадания в клетку. Нуклеиновые кислоты бактерий и вирусов, размножающихся непосредственно внутри клетки, захватываются мембранными везикулами и доставляются к TLR, находящимся в эндосомах. Внутриклеточное расположение TLR, распознающих нуклеиновые кислоты, по-видимому, призвано значительно ограничить контакт лиганда и рецептора и тем самым предотвратить нежелательный или чрезмерный воспалительный ответ в организме хозяина [12].

Внутриклеточная передача сигнала происходит двумя возможными путями. Первый путь связан с включением адаптерного белка MyD88 (белок первичного ответа миелоидной дифференцировки 88), который активирует ядерный транскрипционный фактор NF- κ B, инициирующий в ядре транскрипцию генов провоспалительных цитокинов и антимикробных пептидов. Кроме того, TLR3 и TLR4 способны запускать иммунный ответ по MyD88-независимому пути. Он осуществляется посредством адаптерного белка, индуцирующего интерферон-1 β (Toll/IL-1 domain-containing adaptor inducing interferon-1 β — TRIF), что приводит к фосфорилированию интерферонрегулирующего фактора-3. Альтернативный путь стимулирует выработку интерферонов I типа и активацию интерферониндуцируемых генов.

В экспериментах *in vitro* было показано, что TLR активно функционируют во всех отделах женских половых путей. Так, *in vitro* была получена реакция в виде усиленной продукции цитокинов в ответ на стимуляцию культур эпителиальных клеток эндометрия,

шейки матки, маточных труб полицитидиловой кислотой (polyI:C), которая является лигандом TLR3. Также установлено, что фибробласты маточных труб и эндометриальные эпителиальные и стромальные клетки способны увеличивать выброс медиаторов воспаления в ответ на липополисахарид, являющийся лигандом TLR2. Эти данные, полученные *in vitro*, позволяют предположить, что TLR клеток репродуктивного тракта женщины способны отвечать на патоген *in vivo* и индуцировать иммунный ответ [12].

TLR присутствуют в матке во время беременности. В нескольких исследованиях был проведен количественный анализ экспрессии TLR в ранние и поздние сроки гестации. TLR2 и TLR4 были широко представлены в клетках трофобласта. Исследования *in vitro* показали, что TLR3 и TLR4 клеток трофобласта, полученного на ранних сроках беременности, отвечают на соответствующие лиганды увеличением выработки цитокинов и хемокинов и усилением хемотаксиса нейтрофилов и лимфоцитов [6]. Эти данные служат подтверждением способности клеток трофобласта активировать врожденный иммунитет и участвовать в индукции специфического иммунного ответа.

Исследования, проведенные в культуре клеток и на моделях животных, показали, что TLR играют роль в патогенезе выкидышей и преждевременных родов. В исследованиях, касающихся экспрессии TLR в культуре клеток трофобласта, показано, что в I триместре беременности они экспрессируют TLR1, TLR2, TLR3 и TLR4, но не TLR6. К концу III триместра в плаценте появляется экспрессия TLR6, что предположительно указывает на зависимость его экспрессии от гормональных факторов [17]. E. Beijag и соавт. [18] показали, что трофобласт экспрессирует TLR4 в I триместре значительно в меньшей степени, чем в III [18]. Эти данные позволяют предположить, что хорион на ранних сроках беременности менее восприимчив к действию патогенов, чем на доношенном сроке, хотя механизмы этого явления еще нуждаются в изучении [18]. Кроме того, показано, что TLR в I триместре экспрессируются только в ворсинчатом цитотрофобласте и в неворсинчатом трофобласте, но не в синцитиотрофобласте [17]. Предполагают, что незначительная экспрессия TLR в синцитиотрофобласте, который является наружным слоем, позволяет хориону формировать иммунный ответ только в случае, если микроорганизм разрушает этот наружный слой [19].

In vitro было показано, что активация различных TLR в трофобласте в I триместре беременности приводит к различным эффектам. Так, стимуляция липополисахаридами TLR4 в I триместре приводит к незначительному выбросу провоспалительных цитокинов. В то же время пептидогликан, активирующий TLR2, индуцирует апоптоз клеток трофобласта в гораздо большей степени, чем выработку цитокинов [19].

В экспериментах на различных видах животных также было показано, что индукция самопроизволь-

ных выкидышей происходит через активацию TLR4, которая запускается липополисахаридами грамотрицательных бактерий. Так, E. Hirst и соавт. [20] показали, что инъекция убитой нагреванием культуры кишечной палочки в полость матки у нормальной линии мышей приводила к прерыванию беременности в 100% случаев.

Кроме того, TLR способны играть роль в патогенезе антифосфолипидного синдрома как причины невынашивания беременности. Рассматривая антифосфолипидный синдром с позиций его патофизиологии, Y. Shoenfield и соавт. [21] описывают его возникновение гипотезой «двух ударов». Она объясняет, почему тромбозы возникают не всегда даже при наличии антифосфолипидных антител. Антифосфолипидные антитела («первый удар») увеличивают тромбофилический риск, но свертывание возникает в присутствии других тромбофилических факторов («второй удар»). Было высказано предположение, что инфекционные процессы могут быть «вторым ударом», поскольку они часто предшествуют манифестации антифосфолипидного синдрома и могут быть инициаторами его катастрофического подтипа [22]. Рецепторы врожденного иммунитета, в частности TLR, вовлеченные в распознавание микробных структур, могут выступать синергистами в этом процессе и запускать механизм свертывания. Предположительно, TLR4 является медиатором для β_2 -липопротеида, способствуя активации свертывания [23]. TLR4 также присутствует на тромбоцитах, но не было найдено доказательств, что TLR4 участвует в их активации. Иногда наличие полиморфизма генов, кодирующих сигнальные пути, способствующие выбросу медиаторов воспаления (в частности, TLR4), может защищать от тромбоза вследствие ослабления воспалительного процесса, который может способствовать его развитию [24].

В культуре клеток было показано, что антифосфолипидные антитела могут вызывать иммунный ответ, активируя TLR4 по MyD88-зависимому пути. В высоких концентрациях они также способны вызывать гибель трофобласта, индуцированную каспазой. Данный эффект ослабляется при блокаде MyD88-зависимого пути [25].

В настоящее время, исходя из результатов клинико-эпидемиологических исследований, не подвергается сомнению роль вирусной инфекции в патогенезе самопроизвольных выкидышей [26]. В литературе описаны результаты ряда экспериментальных исследований на мышах, касающиеся влияния экспрессии TLR, лигандами которых являются нуклеиновые кислоты, на развитие самопроизвольных выкидышей.

Так, показано, что TLR3 способствует продукции интерферонов и активирует продукцию провоспалительных цитокинов и антимикробных пептидов через MyD88-независимый путь и позднюю актива-

цию NF- κ B. Полицитидиловая кислота, являющаяся лигандом TLR3, у мышей индуцирует резорбцию и сингенных, и аллогенных эмбрионов. Доказательством того, что резорбция эмбрионов происходит вследствие активации TLR3, является тот факт, что блокада TLR3 специфическими антителами отменяет влияние полицитидиловой кислоты на эмбрион [17]. Те же авторы позднее продемонстрировали, что полицитидиловая кислота на ранних сроках беременности активирует маточные натуральные киллеры. Это, вероятнее всего, и является причиной резорбции эмбрионов.

J. Zhang [28] в экспериментах на мышах показал, что назначение полицитидиловой кислоты нарушает формирование сосудов в беременной матке из-за увеличения выработки TNF- α (фактор некроза опухоли α), и предположил, что это приводит к потере беременности [28]. Кроме того, результатом активации TLR3 является выработка β -интерферона и ци-

токина 5 (RANTES), что также может способствовать преждевременным родам [29].

Таким образом, исследования, посвященные роли TLR в патогенезе невынашивания беременности, проводились преимущественно на моделях животных и в культуре клеток. Роль TLR клеток врожденного иммунитета, критически значимого для развития инфекционно-воспалительных заболеваний женской репродуктивной системы, у человека изучена недостаточно. Поэтому исследование сигнальных рецепторов врожденного иммунитета не только представляет интерес с точки зрения изучения особенностей патогенеза невынашивания беременности ранних сроков, но и открывает новые возможности для его профилактики и лечения.

Работа выполнена при поддержке государственного задания №572 и гранта Президента РФ МД-936.2012.7.

ЛИТЕРАТУРА

1. Тетруашвили Н.К., Агаджанова А.А. Программа обследования и предгестационной подготовки пациенток с привычным выкидышем (клиническая лекция). *Акуш и гинекол* 2012; 6: 87—91.
2. Carp H.J.A. Recurrent pregnancy loss: causes, controversies and treatment. *Informa* 2007; 290—291.
3. Радзинский В.Е., Димитрова В.И., Майскова И.Ю. Неразвивающаяся беременность. М: ГЭОТАР-МЕДИА 2009.
4. Ortel T.L. Antiphospholipid syndrome: laboratory testing and diagnostic strategies. *Am J Hematol* 2012; 87: 1: 75—81.
5. Jauniaux E., Farquharson R.G., Christiansen O.B., Exalto N. Evidence-based guidelines for the investigation and medical treatment of recurrent miscarriage. *Hum Reprod* 2006; 21: 9: 2216—2222.
6. Kitaya K., Yasuo T. Immunohistochemical and Clinicopathological Characterization of Chronic Endometritis. *Am J Reprod Immunol* 2008; 66: 5: 410—415.
7. Ковалева Ю.В. Роль патологии эндометрия в структуре причин невынашивания беременности. *Бюл ФЦСКЭ им. В.А. Алмазова*. СПб 2010; 6: 35—37.
8. Kasius J.C., Broekmans F.J., Sie-Go D.M., Bourgain C. et al. The reliability of the histological diagnosis of endometritis in asymptomatic IVF cases: a multicenter observer study. *Hum Reprod* 2012; 27: 1: 153—154.
9. Cakmak H., Taylor H.S. Implantation failure: molecular and clinical treatment. *Hum Reprod Update* 2011; 17: 2: 242—253.
10. Arechavaleta-Velasco F., Gomez L., Ma Y. et al. Adverse reproductive outcomes in urban women with adeno-associated virus-2 infections in early pregnancy. *Hum Reprod* 2008; 23: 29—36.
11. Ахматова Н.К., Киселевский М.В. Врожденный иммунитет: противоопухолевый и противои инфекционный. *Практ мед* 2008.
12. Nasu K. Pattern recognition via Toll-like receptor system in the human female reproductive tract. *Med Inflam* 2010; 12: 2010—2011.
13. Kollman T.R., Levy O., Montgomery R.R. Innate Immune function by Toll-like receptors: Distinct Responses in Newborns and the Elderly. *Immunity* 2012; 37: 5: 771—783.
14. Макаров О.В., Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В. Невынашивание беременности, инфекция, врожденный иммунитет. М: ГЭОТАР-МЕДИА 2007.
15. Medzhitov R., Preston-Hurlburt P., Janeway C.A. A human homologue of the *Drosophila* Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature* 1997; 388: 6640: 394—397.
16. Ma Y., Krikun G., Abrahams V.M. et al. Cell typespecific expression and function of toll-like receptors 2 and 4 in human placenta: implications in fetal infection. *Placenta* 2007; 28: 1024—1031.
17. Abrahams V.M., Mor G. Toll-like receptors and their role in the trophoblast. *Placenta* 2005; 26: 540—547.
18. Beijar E.C., Mallard C., Powell T.L. Expression and subcellular localization of TLR-4 in term and first trimester human placenta. *Placenta* 2006; 27: 322—326.
19. Abrahams V.M., Aldo P.B., Murphy S.P. et al. TLR6 modulates first trimester trophoblast responses to peptidoglycan. *J Immunol* 2008; 180: 6035—6043.
20. Hirst E., Larsen C.W., Alexandre C., Vincent J.P. Segment boundary formation in *Drosophila* embryos. *Development* 2003; 130: 23: 5625—5635.
21. Shoenfeld Y., Meroni P., Cervera R. Antiphospholipid syndrome dilemmas still to be solved: 2008 status. *Ann Rheum Dis* 2008; 67: 438—442.
22. Shoenfeld Y., Blank M., Cervera R. et al. Infectious origin of the antiphospholipid syndrome. *Ann Rheum Dis* 2006; 65: 2—6.
23. Salmon J.E., de Groot P.G. Pathogenic role of antiphospholipid antibodies. *Lupus* 2008; 17: 405—411.
24. Pierangeli S.S., Vega-Ostertag M.E., Raschi E. et al. Toll-like receptor and antiphospholipid mediated thrombosis: in vivo studies. *Ann Rheum Dis* 2007; 66: 10: 1327—1333.
25. Mulla M.J., Brosens J.J., Chamley L.W. Antiphospholipid antibodies induce a pro-inflammatory response in first trimester trophoblast via the TLR4/MyD88 pathway. *Am J Reprod Immunol* 2009; 62: 2: 96—111.
26. Anzivino E., Fioriti D., Mischitelli M. et al. Herpes simplex virus infection in pregnancy and in neonate: status of art of epidemiology, diagnosis, therapy and prevention. *Virol J* 2009; 6: 40—41.
27. Lin Y., Liang Z., Chen Y. et al. TLR3-involved modulation of pregnancy tolerance in double-stranded RNA-stimulated NOD/SCID mice. *J Immunol* 2006; 176: 4147—4154.
28. Zhang J. Yin and yang interplay of IFN- γ in inflammation and autoimmune disease. *J Clin Invest* 2007; 117: 4: 871—873.
29. Ilievski V., Lu S.J., Hirsch E. Activation of toll-like receptors 2 or 3 and preterm delivery in the mouse. *Reprod Sci* 2007; 14: 315—320.