

УДК: 618.33/36-001.28-056.7:614.73:575
© Куш О.Г., Волошин М.А., 2011

ІМУННИЙ МЕХАНІЗМ РЕГУЛЯЦІЇ ТОЛЕРАНТНОСТІ ПРИ ВАГІТНОСТІ Куш О.Г., Волошин М.А.

Запорізький державний медичний університет

Куш О.Г., Волошин М.А. Імунний механізм регуляції толерантності при вагітності // Український морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, № 3. – С. 158-161.

Морфогенез плаценти, підтримка стану імунологічної толерантності материнського організму до плоду і механізм пологів залежить від імунної регуляції. Імунним механізмом є реактивний стан лімфоїдної тканини асоційованої з плацентою. Морфофункціональний взаємозалежний зв'язок між антигенпрезентуючими клітинами і лімфоцитами різних субпопуляцій плаценти є імунним механізмом підтримки імунологічної толерантності в системі мати-плацента-плід.

Ключові слова: імунологічна толерантність, плацента, антигенпрезентуючі клітини, лімфоцит

Куш О.Г., Волошин Н.А. Иммунный механизм регуляции толерантности при беременности // Украинский морфологический альманах. – 2011. – Том 9, № 3. – С. 158-161.

Морфогенез плаценты, поддержание иммунологической толерантности материнского организма по отношению к плоду и механизм родов зависит от иммунной регуляции. Иммунным механизмом является реактивное состояние лимфоидной ткани ассоциированной с плацентой. Морфофункциональная взаимосвязь между антигенпредставляющими клетками и лимфоцитами разных популяций плаценты является иммунным механизмом поддержания иммунологической толерантности в системе мать-плацента-плод.

Ключевые слова: иммунологическая толерантность, плацента, антигенпрезентирующие клетки, лимфоцит

Kusch O.G., Voloshin M.A. Immune mechanism of adjusting of tolerance at pregnancy // Український морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, № 3. – С. 158-161.

Morphogenesis of placenta, maintenance of immunological tolerance of maternal organism in relation to a foetus and mechanism of lying-ins depend on the immune adjusting. An immune mechanism is the reactive state of lymphoid tissue associated with a placenta. Morfofuncion intercommunication between dendrites cells and lymphocyte of different populations of placenta is the immune mechanism of maintenance of immunological tolerance in the system.

Key words: immunological tolerance, placenta, dendrites cells, lymphocyte

Вступ. Морфогенез плаценти, підтримка стану імунологічної толерантності материнського організму до плоду і механізм пологів залежить від психонейроіндокринної та імунної регуляції [1]. Найменш дослідженим на сьогодні є механізм імунного контролю виношування плоду при вагітності як аллотрансплантату.

На даний момент відомо, що до анатомічного бар'єру, що розмежує два різних організми за рецепторами МНС – організму вагітної і плоду, належать: ендотелій судин і сполучна тканина ворсинчастого хоріону, клітини цитотрофобласту і синцитіотрофобласту, що не несуть класичні рецептори МНС, напорування фібринної (імунологічно ареактивної субстанції) на поверхні синцитіотрофобласту. Перераховані компоненти є складовою гемато-плацентарного бар'єру, що реалізується на рівні ворсинчастого хоріону [2].

На межі позаворсинчатого трофобласту, в місцях вrostання явірних ворсин в децидуальну оболонку матки має бути додатковий фактор тканинного бар'єру, що забезпечуватиме відміну імунної реакції «хазяїн проти трансплантату». Таким фактором мають бути антигенпрезентуючі клітини - ключові клітини в структурі імунного фето-плацентарного бар'єру, що виконують роль імунної регуляції в підтримці вагітності [3].

На сучасному етапі розуміння феному виношування плоду, як чужорідного організму, сформовано гіпотезу – про роль лімфоїдної

тканини, асоційованої з плацентою в підтримці імунологічної толерантності материнського організму по відношенню до плоду. Підґрунтя гіпотези є дослідження будови лімфоїдної тканини асоційованої з плацентою і пропонується термін - PALT (placenta associated lymphoid tissue) – лімфоїдна тканина асоційована з плацентою [4].

До теперішнього часу не досліджену, як морфо-функціональний стан дендритних клітин впливає на стан фето-плацентарного бар'єру і тим самим на підтримку імунологічної толерантності в системі мати-плацента-плід. Не достатньо досліджено, як реактивність лімфоїдної тканини, асоційованої з плацентою модулює стан імунологічної толерантності при вагітності.

Розуміння питання імунологічної толерантності при вагітності дозволить в практичній медицині вирішити ряд питань для уникнення таких клінічних станів, як безпліддя, аборт, токсемія, тощо.

Мета дослідження. Дослідити імунний механізм в підтримці імунологічної толерантності в системі мати-плацента-плід.

Матеріал і методи дослідження. Проведено морфофункціональне дослідження 46 плацент породіль, одержаних під час пологів живим плодом. Плаценти поділено на дві групи. До першої групи ввійшли 24 плаценти породіль з неускладненим перебігом вагітності. До другої групи – 29 плацент породіль, вагітність яких

була ускладнена інфекційним захворюванням. Для оглядового гістологічного дослідження шматочки плаценти фіксувалися в 10% розчині нейтрального формаліну, заливалися в парафін. Гістологічні зрізи товщиною 6 мкм фарбувалися гематоксиліном і еозинном (n=45). На кріостатних зрізах товщиною 10 мкм виявляли дендритні клітини за допомогою реакції на АТФ-фазу (за методом Вахштейна-Мейзеля). Кількість АТФ⁺-клітин підраховували на умовній площі 100000² мкм (Стефанов С.Б., 1988).

Для кількісного і якісного вивчення лімфоцитів плаценти, використовували морфометричну сітку Глаголева, підраховували загальну кількість лімфоцитів в децидуальній тканині матки і в стромі ворсин хоріоальної частини плаценти на умовну одиницю площі 10000 мкм².

Для вивчення топографії цитотоксичних лімфоцитів в матково-плацентарній зоні використовували імуногістохімічний метод з використанням моноклональних антитіл до CD8⁺-рецепторів (фірма "Dako"). На умовній одиниці площі децидуальної тканини матки 10000 мкм² підраховували кількість лімфоцитів.

Враховуючи, що у людини імунологічні взаємовідносини в системі мати-плацента-плід залежать від багатьох факторів, були проведені анатомо-експериментальні дослідження на щурах протягом третього періоду вагітності.

Об'єктом дослідження стала 83 плаценти щурів племені Vistar на 18-у, 20-у, 22-у добу вагітності та на час пологів. Тварини були поділені на три групи. Перша група – інтактна. Тварин другої групи експериментальної групи імунізували комерційним стафілококовим анатоксином за методикою В.А. Сіліна та ін. Третя група тварин – контрольна. Тваринам вводили фізіологічний розчин. Матеріал фіксували в розчині Бусна. Для виявлення цитотоксичних лімфоцитів обробку гістологічних зрізів проводили кон'югатом лектин слимака-пероксидаза хрину (HRA-HRP) із застосуванням комерційного набору „Лектинтест” (м. Львів). Для кількісного виявлення цитотоксичних лімфоцитів в децидуальній тканині матки на умовній площині 100000мкм² підраховували кількість HRA⁺-лімфоцитів (Стефанов С.Б., 1988).

Цифрові данні обробляли статистично з використанням критеріїв Стьюдента. Результати вважали вірогідними при $p \leq 0,05$.

Наукові результати. На початку третього триместру вагітності жінок (29 тиждень) в зоні базальної пластинки виявляються поодинокі якірні ворсини калібром 100-120 мкм, біля яких розташовані тіла АТФ⁺-клітин, кількість яких становить $1,12 \pm 0,03$ клітин на умовну одиницю площі. АТФ⁺-позитивні відростки дендритних клітин виявляються на межі децидуальної пластинки і плодової частини плаценти. Відростки орієнтовані переважно вздовж межі плодової і материнської частини плаценти. АТФ⁺-позитивні відростки мають звивисті контури, що повторює контури латеральної поверхні децидуальної пластинки.

Довжина відростків становить 80-90 мкм, товщина – 2-4 мкм. Відростки розташовані нерівномірно вздовж межі материнської та плодової частини плаценти. АТФ⁺-відростки розташовуються навколо синцитіоцитотрофобласту якірних ворсин. Між якірними ворсинами не виявлено відростків дендритних клітин. Відростки переважно закінчуються вялоподібними потовщеннями.

Наприкінці третього триместру вагітності (39-40 тиждень) АТФ⁺-клітини виявляються на межі материнської і плодової частини плаценти. Тіло клітин має вигляд напівмісяця, від якого відходять 3-5 відростків. Кількість клітин становить $2,05 \pm 0,19$ на умовну одиницю площі. Товщина відростків не змінюється в порівнянні з 29 тижнем вагітності. Але на відміну від попереднього строку спостереження дендритні клітини виявляються на краю децидуальної тканини, яка відокремлюється від стінок матки. Відростки цих клітин розташовуються як вздовж лінії відокремлення від міометрію матки, так і проходять поперек товщини децидуальної тканини. Поперекові відростки мають звивистий характер і закінчуються на межі материнської і плодової частини потовщеннями. В плацентах при доношеній вагітності кількість і топографія дендритних клітин не змінюється, але товщина і кількість відростків зростає. Так в середньому кількість відростків становить 5-7, а товщина до 8-10 мкм.

При дослідженні лімфоцитів основної відпадної оболонки встановлено, що клітини максимально концентруються навколо судин матки, залоз, ближче до вільного краю відпадної оболонки і в місцях вrostання якірних ворсин. Лімфоцити розташовані дифузно, або утворюють невеликі скупчення з 4-7 клітин. У породіль, вагітність яких була ускладнена антигенним впливом протягом періоду вагітності зростає загальна кількість лімфоцитів децидуальної пластинки матки.

При дослідженні розподілу CD8⁺-лімфоцитів встановлено, що вони переважно розташовані на межі децидуальної тканини і плодової частини плаценти, найбільше біля позаворсинчатого трофобласту. Мають розміри середніх лімфоцитів. Їх кількість на умовну одиницю становить $8,05 \pm 0,99$. При обтяжливій вагітності їх кількість зростає до $12,05 \pm 0,50$ лімфоцитів.

При дослідженні експериментального матеріалу встановлено, що на 18-у добу вагітності дендритні клітини плаценти щурів розташовані, переважно, в сполучній зоні плаценти, на межі материнської та плодової частини плаценти та між сполучною зоною і лабіринтною. Таке розташування є закономірним. Це місце контакту тканин різних за походженням та різних за антигенним репертуаром. Дендритні клітини - нерівної форми, розмірами 15-20 мкм. Ядра – світлого тону і мають хвилясті контури. Ядра клітин виявляються на межі компактного шару материнської частини плаценти і сполучної зони, що плодового походження. Від ядер відходять відростки, що йдуть вздовж межі материнської і плодової частини плаценти, і поперек сполучної зони, оточуючи гігантські

трофобластичні клітини. Відростки, що йдуть вздовж межі материнської та плодової частини мають значну подовженість і вони більш потовщенні, але менш звивисті, ніж ті відростки, які проходять скрізь шар клітин трофобластичного походження та мають ниткоподібну форму. В деяких випадках відростки дендритних клітин на кінцях мають поліморфне потовщення: гудзикове, віялоподібне та ін., за рахунок яких вони контактують із децидуальними клітинами компактного шару та з клітинами трофобласту, а також між собою. Нерідко дендритні клітини розташовуються попарно. Клітини розташовані, приблизно, рівномірно, через однакові проміжки – 10-12 мкм.

На 20-у добу вагітності кількість дендритних клітин на умовну одиницю площі зростає, в порівнянні з попереднім строком спостереження. Кількість відростків збільшується. Відростки переважно орієнтовані вздовж межі материнської і плодової частини плаценти, а відростки, що йдуть поперек сполучної зони трофобласту стають коротші та товщі. Підвищується функціональна активність клітин. Наприкінці вагітності (22-а доба вагітності) кількість відростків у клітин продовжує зростати. Відростки вже не утворюють на кінцях бляшки, а нагадують мережану структуру в товщі сполучної зони плаценти.

Під час пологів топографія дендритних клітин в плаценті принципово не змінюється. Як і при попередніх строках спостереження, вони локалізуються в сполучній зоні плаценти, товщина якої значно потонішується. Майже повна альтерація шару гігантських трофобластичних клітин супроводжується зростанням кількості АТФ-позитивного матеріалу в сполучній зоні на умовній одиниці площі. Відростки клітин розташовуються настільки щільно, що на межі плодової і материнської частин плацент формують єдину чорну смугу. Відростки коротшають і потовщуються. Поодинокі гігантські трофобластичні клітини повністю оточені відростками дендритних клітин.

Як і при дослідженні матеріалу отриманого від людини, встановлено, що антигенний вплив на організм вагітних тварин призводить до збільшення загальної кількості лімфоцитів в материнській частині плаценти.

При дослідженні цитотоксичних лімфоцитів в плаценті експериментальних тварин встановлено, що НРА⁺-лімфоцити виявляються серед епітеліальних клітин залоз децидуальної тканини, на межі материнської та плодової частини плаценти, в сполучній зоні плаценти та в сполучнотканинній стромі трабекул лабіринту. На межі децидуальної тканини і плодової частини плаценти, в перехідній зоні плаценти вони мають великий або середній діаметр лімфоцитів. В децидуальній тканині зустрічаються, переважно, клітини малого діаметру.

На 20-у добу вагітності кількість НРА⁺-лімфоцитів в децидуальній тканині зростає, особливо в компактному шарі, по якому проходить відокремлення плаценти. В сполучній зоні плаценти, особливо, в шарі глікогенових клітин зростає чи-

сельність НРА⁺-лімфоцитів. В стромі трабекул лабіринтного відділу плаценти кількість НРА⁺-лімфоцитів залишається постійною, в порівнянні з попереднім строком спостереження.

На 22-у добу вагітності кількість НРА⁺-лімфоцитів збільшується в материнській частині плаценти та серед гігантських трофобластичних клітин.

На час пологів суттєво змінюється кількість НРА⁺-лімфоцитів в шарі гігантських трофобластичних клітин (їх кількість зростає до 6-7 клітин на умовну одиницю площини).

Після уведення стафілококового анатоксину вагітним щурам кількість НРА⁺-лімфоцитів протягом всіх строків спостереження вища в 2-3 рази, ніж в контролі.

Таким чином, на тлі зростання кількості дендритних клітин в плаценті у породіль, зростає кількість CD8⁺-лімфоцитів, а в експерименті на фоні зростання морфо-функціонального стану дендритних клітин збільшується кількість НРА⁺-лімфоцитів.

Механізм міграції незрілих дендритних клітин в децидуальну тканину та їх активацію можливо пояснити змінами в інтенсивності експресії неklasичних рецепторів НІА-G, НІА-E, НІА-F на поверхні клітин трофобласту і „оголенням” класичних рецепторів НІА-A, НІА-B і НІА-C, які є на цитоплазматичній поверхні клітин сполучної стромі трофобласту, що відбувається при відбуванні при фізіологічному старінні плаценти, яке закінчується стоншенням фетоплацентарного бар'єру [4]. Розглядаючи вагітність як „трансплантаційну модель”, імунний конфлікт між материнським і плідним організмами буде формуватися, якщо дендритні клітини почнуть генерувати імунну відповідь, розпізнаючи класичні і неklasичні рецептори НІА на клітинах трофобластичного і фетального походження.

Наприкінці вагітності, при потонішанні фетоплацентарного бар'єру зростає вірогідність контакту відростків дендритних клітин з класичними рецепторами НІА клітин плідного походження, а не з неklasичними НІА рецепторами трофобластичного походження. При зміні імунологічній реактивності змінюється морфо-функціональний стан фетоплацентарного бар'єру, що призводить до підвищення контактної взаємодії з аллогенами клітин плоду. Дендритні клітини активують НК-, НКТ-клітини і $\alpha\beta$ -Т-лімфоцити (CD8⁺), що позначається на протіканні вагітності [5].

Передчасне відшарування нормально розташованої плаценти відбувається при дії антигенів на організм вагітної протягом третього триместру вагітності, що підтверджується також літературними даними. [6]. Підтримка імунологічної толерантності дендритними клітинами в таких умовах унеможливується і формується імунна відповідь проти тканин плоду, за механізмом «хазяїн проти трансплантату».

Зрілі дендритні клітини презентують антигени та індують Т-клітинну імунну відповідь: активують цитотоксичні CD8⁺-Т-лімфоцити та всту-

пають у взаємодію з NK- і NKТ-клітинами [7].

В залежності від умов, зрілі дендритні клітини можуть впливати на морфо-функціональний стан різних субпопуляцій Т-лімфоцитів. Отримані дані стосовно зростання кількості цитотоксичних CD8⁺-Т-лімфоцитів у людини і зростання кількості НРА⁺-лімфоцитів в експерименті після дії антигенів на організм вагітної вказує на те, що дендритні клітини здатні представляти антигени в комплексі з молекулами МНС І класу і відмінити дію супресорного KIR-R-рецептору на NK-клітинах. Досліджено, що у людини це молекули МНС І класу локусів HLA-G і HLA-E, які є кілер-інгібіторними рецепторами для натуральних кілерів і антиген-специфічних цитотоксичних Т-лімфоцитів, особливо γ -V δ 2-T-лімфоцитів [8].

Таким чином, при вагітності, яка супроводжується підвищеною реактивністю імунної системи матері внаслідок антигенної дії, дендритні клітини концентрують і представляють антигени на своїй поверхні, забезпечуючи необхідні коstimулюючі сигнали, продукують цитокіни, запускаючи і регулюючи адаптивну імунну відповідь, що може призводити до передчасних пологів.

В попередніх роботах було продемонстровано, що на тлі дії антигенів на організм вагітної змінюється топографія і кількісний склад інших популяцій лімфоцитів - CD5⁺V₁-лімфоцитів; плазматичних клітин, PNA⁺-імунологічно незрілих лімфоцитів, CD4⁺CD25⁺LHR⁺-регуляторних лімфоцитів, що належать як до вродженої так і адаптивної ланок імунітету. Данні зміни призводять до морфогенетичних змін в структурі плаценти - збільшенню її діаметру і зменшенню товщини, зростанню нашарувань фібриноду, появи синцитіальних бруньок і синцитіокапілярних мембран. Перераховані ознаки є свідченням передчасного старіння плаценти, прискореним стоншенням фетогематоплацентарного бар'єру, що закінчується випереджаючими нормативи положамми як у людини, так і в експерименті. [9, 10, 11]. Тим самим реалізується морфогенетична функція лімфоцитів [12].

Висновки: 1. Імунним механізмом регуляції імунологічної толерантності при вагітності є морфо-функціональний реактивний стан лімфоїдної тканини асоційованої з плацентою.

2. Підтримка імунологічної толерантності при вагітності обумовлена морфо-функціональним станом антигенпрезентуючих клітин, які є об'єднувальним елементом вродженої та адаптивної ланок імунітету лімфоїдної тканини асоційованої з плацентою.

Перспективи подальшого розвитку. Дослідити будову лімфоїдної тканини асоційованої з плацентою у 1-му триместрі.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Benirschke K. Pathology of the Human Placenta / K. Benirschke, P. Kaufmann. - 9 rd ed. - N.Y. :Springer-Verlag, 2006. - 685 p.
2. Федорова М. В. Плацента и ее роль при бере-

менности / М. В. Федорова, Е. П. Калашникова. - М. : Медицина, 1986. - 256 с.

3. Волошин М. А. Морфологія дендритних клітин плаценти щурів протягом третього триместру вагітності / М. А. Волошин, О. Г. Куц // Журн. АМН України. - 2007. - Т. 13, № 2. - С. 327-336.

4. Волошин М.А. Лімфоїдна тканина асоційована з плацентою / М. А. Волошин, О. Г. Куц // Таврический медико-биологический вестник. - 2008.- Т. 11, № 3. , Ч. 1.- С. 24-27.

5. An insight into the dendritic cells at the maternal-fetal interface / K. Juretic, N. Strbo, T. B. Cronicic [et al.] // AJRI. - 2004. - № 52. - P. 350-355.

Arck P. From the Cell Internet: Trophoblast-Recognizing T cells / P. Arck, J. Dietl, D. Clarc // Biology of Reproduction. - 1999. - № 60. - P. 227-233.

6. HLA-G and immune tolerance in pregnancy / J. S. Hunt, M. G. Petroff, R. H. McIntire, C. Ober // The FASEB Journal. - 2005. - № 19. - P. 681-693.

7. Kämmerer U., Schoppet M., D. McLellan A. et. al. Human Decidua Contains Potent Immunostimulatory CD83+ Dendritic Cells//American Journal of Pathology. -2000.- № 157. - P. 159-169.

8. Predominance of Th2-promoting dendritic cells in early human pregnancy deciduas / S. Miyazaki, H. Tsuda, M. Sakai, S. Hori // J. of Leukocyte Biology. - 2003. - Vol. 74. - P. 514-522.

9. Волошин М. А. Особливості розподілу В-лімфоцитів в децидуальній оболонці матки протягом третього періоду вагітності в нормі та після імунізації вагітних стафілококовим анатоксиком / М. А. Волошин, О. Г. Куц // Світ медицини та біології. - 2006. - № 1. - С. 11-13.

10. Волошин М. А. Особливості будови лімфоїдної тканини асоційованої з плацентою у породіль при фізіологічно перебігаючій вагітності та при змінній імунологічній реактивності материнського та плодового організмів / М. А. Волошин, О. Г. Куц // Український морфологічний альманах. - 2008. -Т. 6, № 1. - С. 64-67.

11. Куц О.Г. Дослідження P1A⁺-лімфоцитів-хелперів в децидуальній тканині матки породіль / О. Г. Куц, М. А. Волошин // Український морфологічний альманах. - 20108. -Т. 8, № 2. - С. 118-120.

12. Волошин М. А. Лімфоцит - фактор морфогенеза / М. А. Волошин // Запорож. мед. журн - 2005. - № 3 : матеріали наук. -практ. конф. „Роль імунної, ендокринної та нервової системи у процесах морфогенеза і регенерації”. - С. 122.

Надійшла 21.09.2011 р.

Рецензент: доц. В.М.Волошин