

# ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ПОВЕРХНОСТНЫХ РЕЦЕПТОРОВ НА ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ ЛИНИИ EA.HY926 ПОД ВЛИЯНИЕМ ФАКТОРОВ, СЕКРЕТИРУЕМЫХ ТКАНЬЮ ПЛАЦЕНТЫ

Степанова О.И., Львова Т.Ю., Мирашвили М.И.,  
Фураева К.Н., Соколов Д.И., Сельков С.А.

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

**Резюме.** Ангиогенез ткани плаценты находится под контролем большого спектра ангиогенных факторов и цитокинов, секретируемых ее клетками. Регуляция функциональных параметров эндотелиальных клеток при этом происходит посредством изменения экспрессии рецепторов для различных факторов на эндотелиальных клетках (ЭК). Изменения фенотипа эндотелиальных клеток на разных сроках физиологической беременности и при беременности, осложненной гестозом, остаются недостаточно изученными. Поэтому целью настоящего исследования явилось сравнительное изучение влияния факторов, секретируемых тканью плаценты на разных сроках физиологической беременности и при беременности, осложненной гестозом, на экспрессию рецепторов для ангиогенных факторов и цитокинов на ЭК. Надосадочные жидкости, полученные после культивирования плацент первого и третьего триместра физиологической беременности, а также плацент третьего триместра беременности, осложненной гестозом, усиливали экспрессию рецепторов ангиогенных факторов на ЭК по сравнению со спонтанным уровнем их экспрессии. Экспрессия рецепторов ангиогенных факторов на клетках линии EA.hy926 снижалась под влиянием продуктов, секретируемых тканью плаценты в третьем триместре беременности по сравнению с первым, что совпадает с представлениями о завершении формирования сосудистого русла плаценты к концу беременности. Экспрессия CD119 на ЭК была выше под влиянием факторов, секретируемых тканью плаценты при беременности, осложненной гестозом, по сравнению с физиологической беременностью, что указывает на возможное участие IFN $\gamma$  в активации эндотелиальных клеток при гестозе.

**Ключевые слова:** эндотелиальные клетки, ангиогенные факторы, цитокины, рецепторы, плацента, гестоз.

*Stepanova O.I., L'vova T.U., Mirashvili M.I., Furaeva K.N., Sokolov D.I., Selkov S.A.*

## ALTERED EXPRESSION OF SURFACE RECEPTORS AT EA.HY926 ENDOTHELIAL CELL LINE INDUCED WITH PLACENTAL SECRETORY FACTORS

**Abstract.** Placental cell populations produce a great variety of angiogenic factors and cytokines than control angiogenesis in placenta. Functional regulation of endothelial cells proceeds via modulation of endothelial cell receptors for endogenous angiogenic and apoptotic signals. Endothelial phenotype alteration during normal pregnancy and in cases of pre-eclampsia is not well understood. The goal of this investigation was to evaluate altered expression of angiogenic and cytokine receptors at EA.hy926 endothelial cells under the influence of placental tissue supernatants. Normal placental tissue supernatants from 1st and 3rd trimesters, and pre-eclamptic placental tissue supernatants (3rd trimester) stimulated angiogenic and

### Адрес для переписки:

Соколов Дмитрий Игоревич

199034, Санкт-Петербург, Менделеевская линия, 3.

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

E-mail: corbie@hotmail.ru

cytokine receptors expression by the cultured endothelial cells, as compared with their background expression. Tissue supernatants from placental samples of 3rd trimester caused a decreased expression of angiogenic and cytokine receptors by endothelial cells, thus reflecting maturation of placental vascular system at these terms. Supernatants from preeclamptic placental tissue induced an increase of CD119 expression, in comparison with normal placental supernatants from the 3rd trimester. This finding suggests that  $IFN\gamma$  may be a factor of endothelial activation in pre-eclampsia. The study was supported by grants ГК №02.740.11.0711, НШ-3594.2010.7., and МД-150.2011.7. (*Med. Immunol.*, 2012, vol. 14, N 4-5, pp 321-328)

*Keywords: endothelial cells, angiogenic factors, cytokines, receptors, placenta, preeclampsia.*

## Введение

Физиологическое развитие ткани плаценты обеспечивает необходимый уровень снабжения плода кислородом и питательными веществами. Ткань плаценты обладает хорошо развитой сосудистой сетью, формирование которой влияет на функциональную состоятельность плаценты. Развитие сосудистого русла плаценты происходит благодаря процессам васкулогенеза и ангиогенеза, сопровождающихся изменением функционального состояния эндотелиальных клеток (ЭК), в том числе экспрессии поверхностных молекул. Ангиогенез контролируется широким спектром цитокинов, таких как VEGF, PDGF, PlGF, bFGF, и ангиопоэтинами (Ang). ЭК способны пролиферировать, мигрировать и образовывать капиллярноподобные структуры, которые после стабилизации перицитами становятся полноценными сосудами. Факторы VEGF и PlGF оказывают влияние на функции ЭК, связываясь с рецепторами VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3. Ангиопоэтины влияют на ЭК синергично с VEGF. При этом Ang-1 способствует стабилизации сосудистого русла, тогда как Ang-2 усиливает пластичность сосудов и их чувствительность к VEGF. Ангиопоэтины действуют через рецептор Tie-2, тогда как функции рецептора Tie-1 остаются неясными. В регуляции развития ткани плаценты важное значение имеет PDGF, рецепторами которого на ЭК являются PDGFR $\alpha$  (CD140a) и PDGFR (CD140b). Тромбомодулин (CD141), экспрессируемый на ЭК, связывая тромбин, поддерживает их антикоагулянтные свойства, способствуя поддержанию целостности сосудистого русла и жизнеспособности ЭК.

Различные хемокины также оказывают действие на ЭК, определяя их функциональную активность [13, 17]. Так, хемокин MCP-1, действуя через рецептор CD192, активизирует ремоделирование внеклеточного матрикса эндотелиальными клетками [9]. Хемокин SDF-1 при связывании со своим рецептором CXCR4 (CD 184) участвует в привлечении предшественников эндотелиальных клеток в ткани [13], миграции ЭК [16] и образовании ими капиллярноподобных структур [12].

Важное значение в поддержании жизнеспособности ЭК и их функциональной активности имеют адгезионные молекулы ЭК, обеспечивающие межклеточные взаимодействия и связь с компонентами межклеточного матрикса. Молекула CD44 является рецептором гиалурона, поэтому служит важной молекулой взаимодействия ЭК с внеклеточным матриксом, участвует в регуляции ангиогенеза, контролируя жизнеспособность ЭК, их функциональную активность и образование капиллярноподобных структур ЭК [7]. Важное влияние на развитие ткани плаценты также оказывают привлекаемые в децидуальную ткань лимфоциты и моноциты матери. Интенсивность их трансэндотелиальной миграции из просвета сосудов в ткань определяется экспрессией различных адгезионных молекул на ЭК, в частности CD146.

Изменение поверхностного фенотипа ЭК зависит от большого количества факторов, действующих на ЭК. Среди цитокинов в первую очередь можно выделить  $IFN\gamma$  по его способности модулировать эффекты других цитокинов на ЭК [4]. Ткань плаценты секретирует значительное количество  $IFN\gamma$  как при физиологическом развитии беременности, так и при беременности, осложненной гестозом [2]. В то же время рецептор  $IFN\gamma$  (CD119) экспрессируется различными популяциями клеток, в том числе эндотелиальными клетками. Поэтому  $IFN\gamma$  может оказывать значительное влияние на развитие сосудистого русла плаценты. Эффекты  $IFN\gamma$  могут оказывать влияние и на способность ЭК к защите против цитотоксических эффектов лимфоцитов [15]. Так, ЭК экспрессируют молекулу TRAIL, следовательно способны индуцировать гибель лимфоцитов, несущих на своей поверхности TRAIL-R. Способность ЭК инициировать апоптоз является важным фактором стабильности сосудистого русла.

В течение своего развития ткань плаценты секретирует множество цитокинов, влияние которых на фенотип ЭК недостаточно изучено. Поэтому **целью настоящего исследования** явилось сравнительное изучение влияния факторов, се-

критерируемую ткань плаценты на разных сроках физиологической беременности и при беременности, осложненной гестозом, на экспрессию адгезионных молекул, рецепторов ростовых факторов и цитокинов на эндотелиальных клетках линии EA.hy926.

## Материалы и методы

Использовали плаценты, полученные при искусственном аборте у женщин с физиологическим течением беременности на сроке 9-11 недель

(n = 11, группа 1); плаценты женщин, у которых беременность протекала без осложнений на сроке 38-39 недель (n = 26, группа 2); плаценты женщин с беременностью, осложненной гестозом на сроке 38-39 недель (n = 25, группа 3). Все плаценты на сроке 38-39 недель получены при родоразрешении путем кесарева сечения. Получено информированное согласие пациенток на обследование. Диагноз гестоза установлен на основании ведущих клинических симптомов различной степени выраженности – наличие протеинурии,

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

Адгезионные молекулы	Исходное относительное количество клеток (%), спонтанно экспрессирующих рецепторы	Относительное количество клеток (%) линии EA.Hy926, экспрессирующих рецепторы после их инкубации с надосадоочными жидкостями, полученными после культивирования ткани плаценты:		
		Физиологическая беременность 9-11 недель (группа 1)	Физиологическая беременность 38-39 недель (группа 2)	Беременность, осложненная гестозом (группа 3)
CD141	100,0±0,1	100,0±0,1	100,0±0,1	100,0±0,1
CD146	97,6±0,7	97,4±0,3	97,1±0,3	97,3±0,3
CD140b	2±0,3	5,5±0,8	3,3±0,2	3,4±0,3
CD44	99,6±0,2	98,1±0,3	99,2±0,1	99,0±0,2
VEGFR2	2,4±0,4	9,1±0,8 ◊	4,3±0,4 ***	4,4±0,4
CD140a	0,9±0,1	4,6±0,8 ◊	1,8±0,1 ***	2,3±0,2
VEGFR1	66,2±6,3	80,8±1,4 ◊	80,4±1,4 ◊◊	83,4±1,6 ◊◊
Tie-1	98,1±0,6	99,3±0,3	97,5±0,2	97,8±0,3
Tie2	96,5±2,7	100±0,2	96,9±0,1	96,7±0,1
TRAIL	7,6±2,0	18,7±2,4 ◊	10,6±0,7**	9,9±0,4
VEGFR3	34,3±6,1	56,5±4,0 ◊	47,2±2,3 ◊◊ *	46,8±2,1 ◊◊
CD119	6,6±0,8	18,9±2,3 ◊	11,9±0,9 ◊◊ **	15±0,8 ◊◊ #
CD192	1,9±0,4	9±0,8 ◊	7,7±0,7 ◊◊	7,2±0,5 ◊◊
CD184	2,2±0,3	8,2±1,1 ◊	4,8±0,3**	4,2±0,3

**Примечание.** Достоверность различий между группами: группы 1, 2 и 3 отличаются от исходного относительного количества клеток, экспрессирующих рецепторы для ангиогенных факторов и цитокинов: ◊ – p < 0,05; ◊◊ – p < 0,01; ◊◊◊ – p < 0,001; группа 2 отличается от группы 1: \* – p < 0,05; \*\* – p < 0,01; \*\*\* – p < 0,001; группа 3 отличается от группы 2: # – p < 0,05.

**ТАБЛИЦА 2. ИЗМЕНЕНИЕ ИНТЕНСИВНОСТИ ЭКСПРЕССИИ РЕЦЕПТОРОВ ДЛЯ АНГИОГЕННЫХ ФАКТОРОВ И ЦИТОКИНОВ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫМИ КЛЕТКАМИ ЛИНИИ EA.HY926 ПОСЛЕ ИХ ИНКУБАЦИИ В ПРИСУТСТВИИ НАДОСАДОЧНЫХ ЖИДКОСТЕЙ, ПОЛУЧЕННЫХ ПОСЛЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ТКАНИ ПЛАЦЕНТ ЖЕНЩИН ГРУПП 1, 2 И 3**

Адгезионные молекулы	Исходный уровень экспрессии рецепторов (относительные единицы флуоресценции)	Интенсивность экспрессии исследуемых рецепторов (относительные единицы флуоресценции) на клетках линии EA.Hy926 после их инкубации с надосадочными жидкостями, полученными после культивирования ткани плацент, полученных от женщин с:		
		Физиологической беременностью 9-11 недель (группа 1)	Физиологической беременностью 38-39 недель (группа 2)	Беременностью, осложненной гестозом (группа 3)
CD141	9871,0±362,0	13575,0±463,0 ◊◊◊	15868,0±439,0 ◊◊◊ **	16274,0±580,0 ◊◊◊
CD146	1057,3±28,8	997,4±24,8 ◊	1022,4±21,4	1018,2±21,3
CD140b	39,5±10,7	63,0±6,4 ◊◊	46,7±1,7 ◊◊◊ **	48±2,3 ◊◊◊
CD44	1036,3±82	859,0±56,0 ◊	1054,5±39,0 **	1032,3±43,4
VEGFR2	77,8±7,2	149,9±8,7 ◊◊	128,0±4,3 ◊◊	128,6±13,7 ◊
CD140a	39,0±12,0	68,7±8,0 ◊◊	60,9±5,1 ◊◊◊	61,0±4,2 ◊◊◊
VEGFR1	143,5±11,5	257,6±11,0 ◊◊	197,5±9,6 ◊◊◊ **	208,0±8,1 ◊◊◊
Tie-1	706,6±19,7	858,9±28,6 ◊◊	658,4±30,0***	653,4±22,2
Tie2	430,4±71,2	603,7±14,6 ◊	589,2±16,7 ◊◊◊	586,4±25,2 ◊◊◊
TRAIL	82,3±10,4	138,1±12,2 ◊◊	103,4±6,3 ◊◊◊ **	89,0±3,9 ◊
VEGFR3	128,3±11,7	185,3±11,4 ◊◊	173,4±13,8 ◊◊	149,0±8,8 ◊
CD119	65,5±13,6	107,9±6,7 ◊◊	166,4±21,6 ◊◊◊	157,4±19,9 ◊◊◊
CD192	38,5±9,9	60,9±2,4 ◊◊	56,7±2,3 ◊◊◊	53,3±1,3 ◊◊◊
CD184	67,8±6,6	90,9±6,0 ◊◊	84,8±2,4 ◊◊	75,1±3,7 ◊

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

отеков, гипертензии (повышение систолического давления от 135 мм рт. ст. и выше, диастолического давления от 85 мм рт. ст. и выше). Кусочки ворсинчатого хориона из центральной части плацент культивировали 24 часа в питательной среде DMEM\F12 с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС) (Sigma, США). Кондиционированные среды замораживали при температуре -20 °С.

Исследования проводили с использованием ЭК линии EA.Hy926. Культура получена путем гибридизации первичной эндотелиальной линии

HUVEC с клетками карциномы легкого A-549 в 1983 году Dr. C.-J. Edgel (University of North Caroline, США). Линия EA.hy926 воспроизводит основные морфологические, фенотипические и функциональные характеристики, присущие эндотелию.

ЭК линии EA.Hy926 вносили в лунки 24-луночного плоскодонного планшета для адгезионных культур в концентрации 170000 клеток на лунку в 1 мл среды DMEM/F12 с добавлением 10% ЭТС и культивировали при 37 °С во влажной атмосфере с 5% содержанием CO<sub>2</sub> до образования

конфлюэнтного монослоя. Затем клетки трижды отмывали теплым раствором Хенкса и вносили кондиционированные среды, полученные после культивирования ткани плаценты, разведенные культуральной средой DMEM\F12 с добавлением 10% ЭТС в пропорции 1:1. Клетки культивировали 22 часа при 37 °С во влажной атмосфере с 5% содержанием CO<sub>2</sub>. Затем ЭК снимали с поверхности планшета раствором Версена. Оценивали жизнеспособность ЭК линии EA.Hy926, окрашивая трипановым синим (Sigma, США), при этом она составляла 95-97%. Затем инкубировали ЭК с FcR блокирующим реагентом (MACS, Германия) для снижения неспецифического связывания антител и проводили окрашивание антителами против CD141, CD146, CD44, VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3, CD140a, CD140b, Tie-1, Tie-2, CD36, CD116, CD114, CD119, CD184, CD192, TRAIL (BD, США). Пробоподготовку проводили в соответствии с рекомендациями производителя. Положительным контролем функциональной активности ЭК служила инкубация клеток линии EA.Hy926 в присутствии TNF $\alpha$  (50 Ед/мл) с последующим окрашиванием поверхностной активационной молекулы CD54 [3]. Оценку экспрессии поверхностных адгезионных молекул проводили с использованием проточного цитофлуориметра Facs Canto II (BD, США). Статистическую обработку данных проводили в программе AtteStat 12.1.7, используя критерии Манна–Уитни и Вилкоксона, а также медианный тест.

## Результаты

Инкубация с TNF $\alpha$  значительно усиливала экспрессию молекулы CD54 ( $13722,6 \pm 543,1$ ,  $p < 0,01$ ) на эндотелиальных клетках линии EA.Hy926 по сравнению со спонтанным уровнем экспрессии (интенсивность экспрессии  $232,6 \pm 53,5$ ).

Установлено, что спонтанно все клетки линии EA.hy926 экспрессировали CD141, CD146, CD44, Tie-1, Tie-2, VEGFR-1, VEGFR-3 и не экспрессировали CD140a, CD140b, CD184, CD192, VEGFR-2. Небольшое количество эндотелиальных клеток линии EA.hy926 экспрессировали CD36, CD119, TRAIL (табл. 1 и 2).

Относительное количество клеток, экспрессирующих VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3, CD119, CD192, CD140a, CD184, TRAIL, было выше после их инкубации в присутствии надосадочных жидкостей плацент группы 1 по сравнению с относительным количеством этих клеток, спонтанно экспрессирующих данные молекулы (табл. 1). Параллельно отмечали усиление интенсивности

экспрессии молекул CD141, CD140a, CD140b, VEGFR-1, Tie-1, Tie-2, VEGFR-3, VEGFR-2, CD119, CD184, CD192, TRAIL и уменьшение интенсивности экспрессии CD146, CD44 после их инкубации в присутствии надосадочных жидкостей плацент группы 1 по сравнению со спонтанным уровнем экспрессии этих молекул (табл. 2).

Относительное количество клеток, экспрессирующих VEGFR-1, VEGFR-3, CD119, CD192 было выше после их инкубации в присутствии надосадочных жидкостей плацент группы 2 по сравнению с относительным количеством этих клеток, спонтанно экспрессирующих эти молекулы (табл. 1). Параллельно отмечали усиление интенсивности экспрессии молекул CD141, CD140a, CD140b, VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3, Tie-2, CD119, CD184, CD192, TRAIL после инкубации клеток линии EA.hy926 в присутствии надосадочных жидкостей плацент группы 2 по сравнению со спонтанным уровнем экспрессии этих молекул (табл. 2).

Относительное количество клеток линии EA.hy926, экспрессирующих молекулы VEGFR-2, VEGFR-3, CD140a, CD119, CD184, TRAIL, было ниже после их инкубации в присутствии надосадочных жидкостей плацент группы 2 по сравнению с относительным количеством этих клеток после инкубации в присутствии надосадочных жидкостей плацент группы 1 (табл. 1). Одновременно была повышена интенсивность экспрессии молекул CD141 и CD44 и снижена интенсивность экспрессии молекул VEGFR-1, Tie-1, CD140b, CD116, TRAIL на эндотелиальных клетках линии EA.Hy926 после инкубации в присутствии надосадочных жидкостей плацент группы 2 по сравнению с теми же клетками, проинкубированными в присутствии надосадочных жидкостей плацент группы 1 (табл. 2).

Относительное количество клеток, экспрессирующих VEGFR-1, VEGFR-3, CD119, CD114, CD192 было выше после их инкубации в присутствии надосадочных жидкостей плацент группы 3 по сравнению с относительным количеством этих клеток, спонтанно экспрессирующих указанные молекулы (табл. 1). Параллельно отмечали усиление интенсивности экспрессии молекул CD141, CD140a, CD140b, VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3, Tie-2, CD119, CD114, CD184, CD192, TRAIL после их инкубации в присутствии надосадочных жидкостей плацент группы 2 по сравнению со спонтанным уровнем экспрессии этих молекул (табл. 2).

Установлено, что относительное количество клеток линии EA.Hy926, экспрессирующих CD119, было выше после их инкубации в присутствии надосадочных жидкостей плацент группы 3

по сравнению с их относительным количеством после инкубации в присутствии надосадочных жидкостей плацент группы 2 (табл. 1). Различий в экспрессии остальных изученных нами молекул на клетках линии EA.hy926 после инкубации в присутствии плацент группы 2 и группы 3 не установлено (табл. 1 и 2).

## Обсуждение

Ранее было показано, что фенотип эндотелиальных клеток спиральных артерий матки подобен фенотипу ЭК лимфатических узлов [8]. В используемой нами модели ЭК также экспрессируют CD54, PECAM-1, VEGFR-3 [6], что указывает на схожесть ЭК линии EA.hy926 с ЭК лимфатических узлов. Это позволяет проводить ограниченные аналогии между процессами, происходящими в плаценте и в лимфатических узлах.

Развитие ткани плаценты сопровождается секрецией факторов, оказывающих влияние на различные виды клеток, в том числе на ЭК. Наиболее важными среди них являются ростовые факторы и цитокины. Увеличенная экспрессия рецепторов для ангиогенных факторов, таких как VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3, Tie-1, Tie-2, CD140a, CD140b на эндотелиальных клетках, после культивирования ЭК линии EA.hy926 в присутствии секреторных факторов плацент группы 1 связана с повышенной секрецией тканью плаценты в первом триместре факторов IL-8, bFGF, IL-6 [2] и отражает их роль в процессах ангиогенеза при формировании ткани плаценты в первом триместре беременности. Кроме того, повышение экспрессии хемокиновых рецепторов CD184, CD192 на эндотелиальных клетках свидетельствует о важной роли хемокинов SDF и MCP в регуляции их миграции. Повышенная экспрессия CD119 указывает на возможную роль IFN $\gamma$  в первом триместре беременности в регулировании ангиогенеза за счет модулирования эффектов других цитокинов. Повышенная экспрессия CD141 (тромбомодулина) наряду с повышенной экспрессией TRAIL может указывать на повышение жизнеспособности ЭК за счет усиления антикоагуляционных свойств поверхности ЭК и усиления защиты против цитотоксического действия лимфоцитов матери, что особенно важно в период формирования маточно-плацентарной зоны.

В третьем триместре беременности наблюдается завершение формирования сосудистого русла ткани плаценты. Этот процесс иллюстрируется сниженной экспрессией рецепторов для ангиогенных факторов VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3, Tie-1, CD140a, CD140b, рецептора

для SDF (CD184) и повышенной экспрессией CD44 на эндотелиальных клетках линии EA.hy926 после их культивирования в присутствии секреторных факторов плацент группы 2 по сравнению с группой 1. Вероятно, и в естественных условиях ЭК в конце беременности обладают меньшей чувствительностью к митогенным стимулам. Эти результаты соотносятся с ранее полученными данными о сниженной продукции проангиогенных факторов IL-8, bFGF, IL-6 [2] и повышенной секреции ангиопоэтина-1 (Ang-1) тканью плаценты в третьем триместре беременности по сравнению с первым триместром [5]. Следует отметить, что уровень экспрессии указанных поверхностных рецепторов ЭК после их культивирования в присутствии секреторных факторов плацент группы 2 был повышен по сравнению со спонтанным уровнем их экспрессии, что указывает на участие этих молекул в поддержании стабильной структуры сосудистого русла ткани плаценты и жизнеспособности ЭК в третьем триместре беременности.

Секреторные продукты ткани плацент, полученных после физиологической беременности и после беременности, осложненной гестозом, оказывают одинаковое влияние на экспрессию изученных цитокиновых рецепторов на эндотелиальных клетках линии EA.hy926. Только экспрессия CD119 была выше после культивирования ЭК в присутствии секреторных факторов плацент группы 3 (беременность, осложненная гестозом) по сравнению с группой 2 (физиологическая беременность). IFN $\gamma$  играет важную роль в развитии системной воспалительной реакции при гестозе [11], усиливает стимулирующий эффект TNF $\alpha$  в отношении секреции эндотелиальными клетками IL-8 [1], а также оказывает ингибирующее действие на пролиферативную активность ЭК [10]. Повышенная чувствительность ЭК к IFN $\gamma$  при гестозе, вызываемая секретурными плацентой факторами, может быть одним из механизмов изменения функционального состояния эндотелиальных клеток сосудов при гестозе.

В ходе настоящего исследования продемонстрировано влияние секреторных продуктов плаценты на фенотип эндотелиальных клеток. В первом триместре беременности характерна биологическая активность секреторных продуктов ткани плаценты, оказывающая стимулирующее действие на экспрессию рецепторов ангиогенных факторов и цитокинов, что может отражать активацию ЭК при ангиогенезе в ткани плаценты. В третьем триместре беременности под влиянием секретурных тканью плаценты

факторов экспрессия поверхностных рецепторов на эндотелиальных клетках, возможно, обеспечивает поддержание жизнеспособности ЭК и стабильности сосудистой сети плаценты. Факторы, секретируемые тканью плаценты при беременности, осложненной гестозом, не изменяли экспрессию изученных нами рецепторов, за исключением усиления экспрессии CD119, что указывает на роль IFN $\gamma$  в изменении функционального состояния ЭК при гестозе.

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

## Список литературы

1. Соколов Д.И., Кузнецова С.А., Котов А.Ю., Симбирцев А.С., Полосухина Е.Р., Барышников А.Ю., Шейкин Ю.А., Фрейдлин И.С. Цитокиновая регуляция экспрессии адгезионных молекул ICAM-1 и продукции хемокина IL-8 эндотелиальными клетками // Медицинская Иммунология. – 2000. – Т. 2, № 1. – С. 25-33.
2. Соколов Д.И., Лесничия М.В., Селютин А.В., Климова В.А., Аржанова О.Н., Сельков С.А. Роль цитокинов в контроле развития плаценты в норме и при гестозе // Иммунология. – 2009. – № 1. – С. 22-26.
3. Старикова Э.А., Амчиславский Е.И., Соколов Д.И., Фрейдлин И.С., Полосухина Е.Р., Барышников А.Ю. Изменение поверхностного фенотипа эндотелиальных клеток под влиянием провоспалительных и противовоспалительных цитокинов // Медицинская иммунология. – 2003. – Т. 5, № 1-2. – С. 39-48.
4. Старикова Э.А., Фрейдлин И.С., Соколов Д.И., Сельков С.А. Изменения свойств эндотелиальных клеток линии EA.HY 926 под влиянием фактора некроза опухоли А, интерферона и интерлейкина-4 // Иммунология. – 2005. – Т. 26, № 2. – С. 83-87.
5. Степанова О.И., Лесничия М.В., Львова Т.Ю., Соколов Д.И., Сельков С.А. Секреция ангиопоэтинов тканью плаценты при физиологическом развитии беременности и при гестозе // Журнал акушерства и женских болезней. – 2010. – Т. LIX, № 6. – С. 69-74.
6. Степанова О.И., Львова Т.Ю., Пюрбева Е.Н., Миращвили М.И., Зайнулина М.С., Сельков С.А., Соколов Д.И. Влияние растворимых продуктов ткани плаценты на экспрессию адгезионных молекул эндотелиальными клетками EA.HY926 // Медицинская иммунология. – 2011. – Т. 13, № 6. – С. 589-596.
7. Cao G., Savani R. C., Fehrenbach M., Lyons C., Zhang L., Coukos G., DeLisser H. M. Involvement of endothelial CD44 during in vivo angiogenesis // Am. J. Pathol. – 2006. – Vol. 169. – P. 325-336.
8. Chantakru S., Wang W.-C., Heuvel M., Bashar S., Simpson A., Chen Q., Croy B. A., Evans S.S. Coordinate regulation of lymphocyte-endothelial interactions by pregnancy-associated hormones // J. Immunol. – 2003. – Vol. 171. – P. 4011-4019.
9. Dzenko K.A., Andjelkovic A.V., Kuziel W.A., Pachter J.S. The chemokine receptor CCR2 mediates the binding and internalization of monocyte chemoattractant protein-1 along brain microvessels // The Journal of Neuroscience. – 2001. – Vol. 21, N 23. – P. 9214-9223.
10. Gerber S.A., Pober J.S. IFN- $\alpha$  induces transcription of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  to inhibit proliferation of human endothelial cells // The Journal of Immunology. – 2008. – Vol. 181. – P. 1052-1062.
11. Germain S.J., Sacks G.P., Soorana S.R., Sargent I.L., Redman C.W. Systemic Inflammatory Priming in Normal Pregnancy and Preeclampsia: The Role of Circulating Syncytiotrophoblast Microparticles // The Journal of Immunology. – 2007. – Vol. 178. – P. 5949-5956.
12. Kanda S., Mochizuki Y., Kanetake H. Stromal cell-derived factor-1 induces tube-like structure formation of endothelial cells through phosphoinositide 3-Kinase // The Journal of biological chemistry. – 2003. – Vol. 278, N 1. – P. 257-262.
13. Raines E.W., Ferri N. Cytokines affecting endothelial and smooth muscle cells in vascular disease // J. Lipid. Res. – 2005. – Vol. 46. – P. 1081-1092.
14. Smadja D.M., Bièche I., Uzan G., Bompais H., Muller L., Boisson-Vidal C., Vidaud M., Aiach M., Gaussem P. PAR-1 activation on human late endothelial progenitor cells enhances angiogenesis in vitro with upregulation of the SDF-1/CXCR4 system // Arterioscler Thromb Vasc Biol. – 2005. – Vol. 25. – P. 2321-2327.
15. Stefanescu R., Bassett D., Modarresi R., Santiago F., Fakruddin M., Laurence J. Synergistic interactions between interferon- and TRAIL modulate c-FLIP in endothelial cells, mediating their lineage-specific sensitivity to thrombotic thrombocytopenic

purpura plasma-associated apoptosis // Blood. – 2008. – Vol. 112. – P. 340-349.

16. Takagi Y., Hashimoto N., Phan S.H., Imaizumi K., Matsuo M., Nakashima H., Hashimoto I., Hayashi Y., Kawabe T., Shimokata K., Hasegawa Y. Erythromycin-induced CXCR4 expression on microvascular endothelial cells // Am. J. Physiol Lung Cell Mol Physiol. – 2009. – Vol. 297. – P. 420-431.

17. Werle M., Schmal U., Hanna K., Kreuzer J. MCP-1 induces activation of MAP-kinases ERK, JNK and p38 MAPK in human endothelial cells // Cardiovascular Research. – 2002. – Vol. 56. – P. 284-292.

*поступила в редакцию 11.10.2011*

*отправлена на доработку 26.12.2011*

*принята к печати 12.01.2012*