

Особенности межклеточных взаимодействий в базальной децидуальной оболочке при вагините, ассоциированном с контаминацией условно-патогенными микроорганизмами

Мустафина Л.Р.¹, Логвинов С.В.¹, Юрьев С.Ю.²

Peculiarities of cell-cell interactions in basal decidual membrane at vaginitis associated with contamination by opportunistic microorganisms

Mustafina L.R., Logvinov S.V., Yuriyev S.Yu.

¹ Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

² ООО «Центр перинатального здоровья», г. Томск

© Мустафина Л.Р., Логвинов С.В., Юрьев С.Ю.

Важная роль в противoinфекционной защите во время беременности принадлежит механизмам местного иммунитета. При контаминации нижних половых путей *Ureaplasma urealyticum* и *Mycoplasma hominis* отсутствовала активация натуральных килеров в базальной децидуальной оболочке, что можно считать маркером иммунной скомпрометированности женщин в плане надежности контроля за популяцией урогенитальной условно-патогенной флоры и прогностическим фактором возможной внутриматочной инфекции.

Ключевые слова: базальная децидуальная оболочка, микоплазма, уреаплазма.

An important role in anti-infection protection during pregnancy belongs to local immunity mechanisms. At contamination of lower genital tracts by *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis*, the activation of natural killers in basal decidual membrane was absent, which can be considered as a marker of immune compromise of women in the aspect of reliability of control of the population of urogenital opportunistic flora and prognostic factor of possible intrauterine infection.

Key words: basal decidual membrane, mycoplasma, ureaplasma.

УДК 576.314.626.041:618.15-002-02:615.371

Введение

Проблема внутриутробного инфицирования становится все более актуальной по причине возрастающей частоты распространенности инфекционно-воспалительных заболеваний у беременных и родильниц. Большое внимание исследователи уделяют патологическим процессам, ассоциированным с условно-патогенной флорой, всегда присутствующей в половых путях беременных женщин. Доказано, что обширная колонизация урогенитального тракта такими патогенами, как микоплазмы, способствует самопроизвольным абортam и преждевременным родам, а также повышает риск развития постабортных и послеродовых осложнений [1, 4].

Показано увеличение частоты обнаружения микоплазм во время беременности в 1,5—2 раза, что связывают с изменениями трофики клеток за счет трансформации процессов синтеза и рецепции эстрогенов [4]. Этот процесс может усугубляться также за счет специфической модуляции иммунитета, характерного для беременности. Доказано, что многие белки, продуцирующиеся плацентой, обладают супрессорной активностью, что создает благоприятные условия для репликации инфекционных агентов, при этом активное развитие микрофлоры в нижних половых путях может привести к углублению иммунодефицитного состояния за счет непосредственного и цитокиноопосредованного воздействия на клетки иммунной системы. В этот период воспалительная реакция в маточно-

плацентарной области возможна только за счет клеток иммунной системы матери, и, как правило, в этом участвуют иммунокомпетентные клетки эндометрия (децидуальной оболочки) [2, 5]. Показано, что невынашивание беременности может быть связано не только с прямым эффектом инфекционного агента, но и с абортным действием некоторых иммунных реакций в маточно-плацентарной области, которые направлены на нейтрализацию и элиминацию патогена [8].

Механизмам местного иммунитета принадлежит важная роль в противоинфекционной защите и патогенезе воспалительного процесса, его исследованию уделяется большое внимание в настоящее время. Актуальна оценка параметров локальной иммунной системы в области непосредственного контакта организма матери и плода при контаминации нижних половых путей условно-патогенными микроорганизмами, что и явилось целью настоящего исследования.

Материал и методы

Методом сплошной выборки были обследованы 100 беременных женщин, направленных для искусственного прерывания беременности по немедицинским показаниям в гестационном сроке 6—8 нед. Средний возраст пациенток, включенных в исследование, статистически значимо не различался между сравниваемыми группами и составил в среднем ($28 \pm 5,3$) года.

До оперативного вмешательства все женщины были клинически обследованы. Оценку вагинально-цервикального биоценоза проводили на основании анализа уретральных, влагалищных и цервикальных мазков с окраской по Граму. Идентификацию урогенитальных микоплазм осуществляли методом полимеразной цепной реакции.

По результатам исследования были выделены следующие группы: 1-я — 18 пациенток с контаминацией нижних половых путей *Ureaplasma urealyticum*; 2-я — 16 пациенток с контаминацией нижних половых путей *Mycoplasma hominis*. Микробное число в обеих группах составило более 10^4 КОЕ. Контрольная группа, 3-я (66 пациенток) — без уреа- и микоплазменной контаминации.

Критериями исключения из исследования являлись: наличие неразвивающейся беременности, анэмбриония, аутоиммунные заболевания, декомпенсированная экстрагенитальная патология и инфекции, пе-

редаваемые половым путем, вызванные облигатными патогенами (гонорея, трихомониаз, хламидиоз). Женщины, лечившиеся по поводу микоплазменной инфекции до наступления настоящей беременности, также исключались из исследования.

Материал, полученный при выскабливании полости матки во время искусственного аборта, забирали для гистологического исследования. Объекты фиксировали в 10%-м нейтральном формалине и по общепринятой методике заливали в парафин. После приготовления срезов толщиной 4—6 мкм проводили иммуногистохимическое окрашивание при помощи моноклональных антител CD16, CD56 (DakoCytomation, Дания) и TLR2 (BD Biosciences, США), визуализацию экспрессии осуществляли с использованием набора EnVision (DakoCytomation, Дания). Ядра докрашивали гематоксилином Майера.

Для подсчета численной плотности иммунокомпетентных клеток в 1 мм^2 базальной децидуальной оболочки использовали окулярную вставку с известной площадью при ок. 10 и об. 90. Просмотр и фотографирование микропрепаратов осуществляли на микроскопе Axiostar plus (Carl Zeiss, Германия).

Статистическую обработку результатов проводили при помощи лицензионного пакета программ Statistica 6.0 for Windows. Анализ полученных данных осуществляли методами описательной статистики с вычислением медианы *Me* и интерквартильного интервала $Q_1—Q_3$. Для оценки различий использовали непараметрический критерий Манна—Уитни. Значимость различий между показателями разных групп принимали при $p < 0,05$. Корреляционную связь оценивали при помощи ранговой корреляции Спирмена.

Все проводимые исследования были одобрены локальным этическим комитетом СибГМУ (рег. № 1278 от 01.03.2010 г.) и выполнялись с письменного согласия пациенток.

Результаты и обсуждение

При гистологическом исследовании преобладающим типом иммунокомпетентных клеток, присутствующих в базальной децидуальной оболочке в 6—8 нед беременности и отвечающих за локальный иммунный ответ, являлись моноцитарно-макрофагальные клетки и лимфоциты.

Макрофаги и моноциты, цитоплазма которых интенсивно экспрессирует CD68^+ , составляли подав-

ляющее большинство клеточных элементов. При подсчете количество CD68⁺-клеток в 1 мм² децидуальной оболочки значимо не различалось между сравниваемыми группами (таблица).

Доминирование данного вида клеток согласуется с концепцией, согласно которой подавление специфического иммунного ответа матери сопровождается активацией неспецифической врожденной иммунной системы [8]. При этом именно моноциты и макрофаги, значительно увеличивающие свою популяцию в ранние сроки физиологической беременности, играют ведущую роль в иммунологической адаптации материнского организма к полуаллогенному эмбриону и поддержании беременности [10, 14]. Согласно данным разных исследователей, содержание макрофагов в децидуальной оболочке достаточно велико (около 20%) и остается таковым на протяжении всей беременности [12, 14].

Численная плотность клеточного инфильтрата базальной децидуальной оболочки в 6—8 нед беременности при вагините, ассоциированном с контаминацией нижних половых путей условно-патогенными микроорганизмами (*Me* (Q_1 — Q_3)), клеток в 1 мм²

Вид клеток	Группа 1	Группа 2	Группа 3
CD68 ⁺	2612,1 (2267,06—3351,31)	2205,5 (1774,22—3351,31)	2217,8 (1774,22—2858,47)
TLR2 ⁺	1889,2 ^{2,3} (1478,52—2329,79)	915,3 ¹ (657,12—1478,52)	1284,4 ¹ (1026,75—1548,93)
НК-клетки	0,0 ³	0,0 ³	271,1 ^{1,2}
CD16 ⁺ CD56 [±]	(0,00—197,14)	(0,00—24,64)	(0,00—492,84)

Примечание. ^{1, 2, 3} — статистически значимые отличия от соответствующей группы ($p < 0,05$). Критерий Манна—Уитни для двух независимых групп.

Для оценки активности фагоцитарных клеток в базальной децидуальной оболочке было проведено иммуногистохимическое исследование экспрессии толл-подобных рецепторов (ТЛР), выявляемой на мембранах моноцитов и макрофагов [15]. При контаминации нижних половых путей *Ureaplasma urealyticum* отмечалось увеличение численной плотности ТЛР2-позитивных клеток по сравнению с показателями в контроле и в группе с контаминацией *Mycoplasma hominis* (таблица). Таким образом, при наличии уреоплазм фагоциты базальной децидуальной оболочки обнаруживали признаки противомикробной активации. Повышение уровня экспрессии ТЛР2 может способствовать развитию преимущественно локально-

го воспаления и благоприятному исходу заболевания [6].

Присутствие в нижних половых путях *Mycoplasma hominis* не сопровождалось изменением численной плотности фагоцитов, экспрессировавших на поверхности ТЛР2. Наоборот, обращало на себя внимание некоторое снижение показателя (в 1,4 раза по сравнению с таковым в контрольной группе). Представленные данные указывают на отсутствие значимой активации поверхностных рецепторов фагоцитов при количестве, сопоставимом с контрольными показателями. Аналогичные результаты были получены в экспериментах у иммунодефицитных мышей, клетки которых характеризовались сниженной чувствительностью к стимуляции отдельными агонистами ТЛР [13].

ТЛР2 играют решающее значение не только в регуляции врожденного иммунного ответа посредством активации фагоцитов, но также способствуют активации натуральных киллеров (НК), осуществляющих контроль за бактериальной и вирусной инфекцией [11, 16].

Согласно данным, полученным в настоящем исследовании, численная плотность цитотоксических НК-клеток (CD16⁺CD56[±]), представленных в базальной децидуальной оболочке при уреа- и микоплазменной контаминации нижних половых путей, была равна нулю, что значимо отличалось от показателей контрольной группы (таблица). Полученные результаты свидетельствуют о невозможности у женщин данной группы адекватного клеточного ответа на инфекцию при активации инфекционного процесса в нижних половых путях, а также объясняют отсутствие воспалительной реакции в базальной децидуальной оболочке. Подобная супрессия локального иммунитета была описана при латентном течении бессимптомного воспалительного процесса, вызванного уреа- и (или) микоплазменным инфицированием [9].

При корреляционном анализе была установлена обратная зависимость между численной плотностью ТЛР2-позитивных и НК-клеток. Так, повышенная экспрессия ТЛР2 на фагоцитах базальной децидуальной оболочки сочеталась с резким снижением НК-клеток при наличии в нижних половых путях *Ureaplasma urealyticum* ($r = -0,78$; $p = 0,013$) и *Mycoplasma hominis* ($r = -0,68$; $p = 0,045$). Установленная корреляция может следующим образом характеризовать межклеточные взаимодействия: макрофаги, контактируя с эпи-

топами мембраны *Ureaplasma urealyticum*, активируются, о чем говорит увеличение количества TLR2 на их поверхности. Выделяемые при этом цитокины должны среди прочих эффектов вызвать пролиферацию НК-клеток, однако этого не происходит, и по механизму отрицательной обратной связи экспрессия TLR2 на поверхности макрофагов поддерживается на повышенном уровне. При контаминации *Mycoplasma hominis* увеличения TLR2-экспрессирующих макрофагов не происходит, что может быть связано с непосредственным повреждением клеточной мембраны микоплазмами. Подобный эффект описан в литературе. Показано, что микоплазмы, встраиваясь в мембрану клетки-хозяина, могут изменять фенотип и характер реагирования клеток [7, 9]. Такая антигенная мимикрия позволяет микоплазмам длительно персистировать в организме, способствуя развитию аутоиммунных процессов.

Заключение

Отсутствие активации НК-клеток при массивной контаминации условно-патогенными микроорганизмами может быть следствием нарушения межклеточных взаимодействий в процессе презентации антигена, дифференцировки лимфоцитов, изменения клеточных мембран. Учитывая системный характер нарушений, они будут наблюдаться и в слизистой оболочке мочевого тракта, и в базальной децидуальной оболочке. Таким образом, наличие у беременных большого микробного числа *Ureaplasma urealyticum* и *Mycoplasma hominis* в слизистых оболочках нижних половых путей вне зависимости от наличия воспалительного процесса можно считать маркером иммунной скомпрометированности женщин в плане надежности контроля за популяцией урогенитальной условно-патогенной флоры и прогностическим фактором возможной внутриматочной инфекции.

Литература

1. Глуховец Б.И. Восходящее инфицирование фетоплацентарной системы. М.: МЕДпресс-информ, 2006. 240 с.
2. Михнина Е.А. Морфофункциональное состояние эндомет-

- рия у женщин с бесплодием и невынашиванием беременности: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. СПб., 2009. 40 с.
3. Поздняков И.М., Юкляева Н.В., Гуляева Л.Ф. и др. Инвазия трофобласта и ее роль в патогенезе гестоза // Акушерство и гинекология. 2008. № 6. С. 3—6.
4. Прилепская В.Н., Фофанова И.Ю. Микоплазменная инфекция и беременность // Акушерство и гинекология. 2007. № 4. С. 5—8.
5. Романовская В.В. Прогностическое значение компонентов врожденного иммунитета (TLR2, TLR4 и HBD1) у беременных с высоким риском реализации внутриутробной инфекции: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2008. 17 с.
6. Самарканова Д.М., Шортанбаев А.А., Бижигитова Б.Б. и др. Изучение экспрессии толл-подобных рецепторов при некоторых заболеваниях // Вестник КазНМУ. 2011. № 10. С. 7—10.
7. Семко О.Ф., Пискун О.В. Урогенитальный микоплазмоз // Жіночий лікар. 2006. № 2. С. 21.
8. Сухих Г.Т., Ванько Л.В. Иммунные факторы в этиологии и патогенезе осложнений беременности // Акушерство и гинекология. 2011. № 1. С. 128—136.
9. Doh K., Barton P.T., Korneeva I. et al. Differential vaginal expression of interleukin-1 system cytokines in the presence of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in pregnant women // Infect. Dis. Obstet. Gynecol. 2004. № 2. P. 79—85.
10. Engert S., Rieger L., Kapp M. et al. Profiling chemokines, cytokines and growth factors in human early pregnancy decidua by protein array // Am. J. Reprod. Immunol. 2007. № 2. P. 129—137.
11. Kim M., Osborne N.R., Zeng W. et al. Herpes Simplex Virus Antigens Directly Activate NK Cells via TLR2, Thus Facilitating Their Presentation to CD4 T Lymphocytes // J. Immunol. 2012. № 9. P. 4158—4170.
12. Lash G.E., Otun H.A., Innes B.A. et al. Regulation of extravillous trophoblast invasion by uterine natural killer cells is dependent on gestational age // Hum. Reprod. 2010. № 5. P. 1137—1145.
13. Lin Y., Zhong Y., Saito S. et al. Characterization of natural killer cells in nonobese diabetic/severely compromised immunodeficient mice during pregnancy // Fertil. Steril. 2009. № 6. P. 2676—2686.
14. Nagamatsu T., Schust D.J. The immunomodulatory roles of macrophages at the maternal-fetal interface // Reprod. Sci. 2010. № 3. P. 209—218.
15. Nilsen N.J., Deininger S., Nonstand U. et al. Cellular trafficking of lipoteichoic acid and Toll-like receptor 2 in relation to signaling: role of CD14 and CD36 // J. Leukoc. Biol. 2008. № 1. P. 280—291.
16. Souza-Fonseca-Guimaraes F., Parlato M., Fitting C. et al. NK Cell Tolerance to TLR Agonists Mediated by Regulatory T Cells after Polymicrobial Sepsis. // J. Immunol. 2012. № 7. P. 281—294.

Поступила в редакцию 14.06.2012 г.

Утверждена к печати 22.06.2012 г.

Мустафина Л.Р., Логвинов С.В., Юрьев С.Ю. Особенности межклеточных взаимодействий в базальной децидуальной оболочке...

Сведения об авторах

Л.Р. Мустафина — канд. мед. наук, докторант кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии СибГМУ (г. Томск).

С.В. Логвинов — д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии СибГМУ (г. Томск).

С.Ю. Юрьев — д-р мед. наук, директор ООО «Центр перинатального здоровья» (г. Томск).

Для корреспонденции

Мустафина Лилия Рамильевна, тел.: 8(3822)55-60-32, 8-913-889-04-16; e-mail: mustafinalr@rambler.ru