

ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА В ТКАНЯХ ПЛАЦЕНТЫ И ПЛОДНЫХ ОБОЛОЧЕК ПРИ ДОНОШЕННОЙ БЕРЕМЕННОСТИ

М.А. Каганова

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Самара, Россия

Как цитировать: Каганова М.А. Особенности экспрессии генов врожденного иммунитета в тканях плаценты и плодных оболочек при доношенной беременности // Аспирантский вестник Поволжья. 2021. № 5–6. С. 191–199. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.191-199>

Поступила: 28.07.2021

Одобрена: 25.08.2021

Принята: 06.09.2021

■ **Цель** — оценить уровень экспрессии генов *TLR2*, *TLR4*, *TLR7* в плаценте и плодных оболочках при доношенной физиологически протекающей беременности, без признаков начала родовой деятельности.

Материалы и методы. Исследование выполнено на базе ГБУЗ ГKB № 1 им. Н.И. Пирогова (Самара), в него были включены 15 беременных в сроке гестации 37–41 нед. без сопутствующей соматической патологии, обострения хронических и острых воспалительных заболеваний, акушерских осложнений (признаки плацентарной недостаточности, преэклампсии). Все пациентки были родоразрешены в плановом порядке путем кесарева сечения, показаниями к которому стали неправильное положение и предлежание плода. Уровень экспрессии генов *TLR2*, *TLR4*, *TLR7* определялся методом обратной транскрипции и полимеразно-цепной реакции в режиме реального времени на базе лаборатории молекулярно-генетических методов ООО «НПО ДНК-Технология» с использованием набора реагентов «Проба-НК».

Результаты. Получены данные об особенностях экспрессии генов *TLR2*, *TLR4*, *TLR7* в плаценте и плодных оболочках при доношенной беременности. Выявлены прямые корреляции между продукцией *TLR2*, *TLR4*, *TLR7* плодных оболочек и *TLR2* плаценты. Выработка *TLR4* и *TLR7* не была связана с продукцией вышеперечисленных *TLRs*. Выявлены значимые различия у беременных с воспалительными и инволютивно-дистрофическими изменениями в плаценте и уровнем экспрессии *TLR4*.

Заключение. При физиологически протекающей беременности равномерно происходит экспрессия генов Toll-подобных рецепторов (*TLRs*) в тканях фетоплацентарного комплекса, существуют положительные корреляции между экспрессией *TLR2*, *TLR4*, *TLR7* плодных оболочек и *TLR2* плаценты, а также ее массой. Наиболее значимым индикатором воспалительного процесса является содержание *TLR4* в плаценте.

■ **Ключевые слова:** мРНК; toll-подобные рецепторы; полимеразная цепная реакция; беременность; плацента.

GENE EXPRESSION OF THE CONGENITAL IMMUNITY IN TISSUES OF THE PLACENTA AND FETAL MEMBRANES IN FULL-TERM PREGNANCY

М.А. Kaganova

Samara State Medical University, Samara, Russia

To cite this article: Kaganova MA. Gene expression of the congenital immunity in tissues of the placenta and fetal membranes in full-term pregnancy. *Aspirantskiy Vestnik Povolzh'ya*. 2021;(5-6):191–199. DOI: <https://doi.org/10.55531/2072-2354.2021.21.3.191-199>

Received: 28.07.2021

Revised: 25.08.2021

Accepted: 06.09.2021

■ **AIM:** To assess the level of expression of *TLR2*, *TLR4*, *TLR7* genes in the placenta and fetal membranes during full-term physiological pregnancy, without signs of onset of labor.

MATERIALS AND METHODS: The study was carried out at the premises of City Clinical Hospital No. 1 named after N.I. Pirogov (Samara), and included 15 pregnant women at 37–41 weeks of gestation without somatic pathology,

exacerbation of chronic and acute inflammatory diseases, obstetric complications (placental insufficiency, preeclampsia). All patients were delivered by elective caesarean section due to fetal malposition. The level of expression of *TLR2*, *TLR4*, *TLR7* genes was determined by reverse transcription and real-time PCR (RT-PCR) on the basis of the laboratory of "NPO DNA-Technology" using a set of reagents "Proba NK".

RESULTS: The data on the features of *TLR2*, *TLR4*, *TLR7* expression in the placenta and membranes during full-term pregnancy were obtained. Direct correlations were found between the production of *TLR2*, *TLR4*, *TLR7* of the fetal membranes and *TLR2* of the placenta. The expression of placental *TLR4* and *TLR7* was not associated with the production of the *TLRs*. Significant differences were revealed in pregnant women with inflammatory and involutive-dystrophic changes in the placenta and the level of *TLR4* expression.

CONCLUSIONS: The expression of the Toll-like receptors (*TLRs*) in the tissues of the fetoplacental complex occurs uniformly during physiological pregnancy. There are positive correlations between the expression of *TLR2*, *TLR4*, *TLR7* of the fetal membranes and *TLR2* of the placenta, as well as its mass. The most significant indicator of the inflammatory process is the placental expression of *TLR4*.

■ **Keywords:** mRNA; toll-like receptors; polymerase chain reaction; pregnancy; placenta.

Нарушение иммунной функции плаценты лежит в основе большинства акушерских осложнений и «больших» акушерских синдромов [10]. Само по себе возникновение, прогрессирование беременности и ее окончание, то есть рождение ребенка, связано с каскадом не только гормон-опосредованных изменений, но и, в первую очередь, иммунологических реакций. Соответственно, актуальным стало исследование особенности экспрессии генов врожденного иммунитета в норме и при патологии в различные сроки беременности.

Одни из наиболее важных рецепторов врожденного иммунитета — Toll-подобные рецепторы (*TLRs*). Они относятся к семейству паттерн-распознающих рецепторов (*PRRs*) и осуществляют распознавание молекулярных структур различных микроорганизмов, обеспечивая быструю реакцию клетки. Несмотря на то что у ряда организмов идентифицированы функциональные *TLR*, их биологическая роль и механизмы функционирования до конца не изучены. У человека выделено 10 *TLR* [4, 23].

В зависимости от локализации *TLRs* условно разделены на две подгруппы: *TLRs*, которые локализуются на цитоплазматической мембране клетки (*TLR1*, *TLR2*, *TLR4*, *TLR5*, *TLR6*, *TLR10*), и *TLRs*, которые локализуются и проявляют свою активность на мембранах внутриклеточных везикул, таких как лизосомы, эндосомы, эндоплазматический ретикулум (*TLR3*, *TLR7*, *TLR8*, *TLR9*) [4]. *TLR2*, *TLR4* и *TLR6* функционируют в качестве основных врожденных датчиков у лекопитающих для распознавания клеточной стенки компонентов грамотрицательных бактерий. Внутриклеточные *TLR3* распознают вирусную двухцепочечную РНК, а *TLR7*, *TLR8*, *TLR9* — нуклеиновые кислоты. Рецепторы клеточной мембраны, такие как *TLR4*, свя-

зывают эндотоксин (липополисахарид) грам-отрицательных бактерий, активация которого сопровождается экспрессией генов цитокинов и других сигнальных пептидов, что позволяет выделить его ключевую роль в реализации реакций врожденного иммунитета; *TLR5* распознает бактериальные белки жгутиков; рецептор *TLR2* уникален своей способностью образовывать гетеродимеры с *TLR1* и *TLR6* на поверхности цитоплазматической мембраны. Большинство *TLRs* экспрессируются иммунными клетками — макрофагами, моноцитами, нейтрофилами, лейкоцитами, тучными и дендритными клетками, которыми богата плацента. Кроме того, *TLRs* также играют ключевую роль в патогенезе асептического воспаления, посредством активации через эндогенные лиганды, высвобождающиеся при повреждении клеток (так называемых молекулярных паттернов, связанных с повреждением, — damage associated molecular patterns, DAMPs). Аналогично PAMPs (pathogen associated molecular patterns), DAMPs активируют внутриклеточный путь сигнализации с последующим синтезом провоспалительных цитокинов и формированием типичной тканевой воспалительной реакции [2, 23]. *TLR* могут обеспечивать механизм продукции цитокинов на границе раздела матери и плода не только в нормальных физиологических аспектах беременности, но и при ее осложнениях, например, преждевременных родах, связанных с инфекцией [9].

Плацента содержит специфические для беременности компоненты врожденной иммунной системы, потому что она представляет собой физический и иммунологический барьер от проникновения инфекционных агентов, в том числе и за счет активности *TLR*. Транскрипты *TLR1–10* были идентифицированы в плаценте как при доношенной, так

и при недоношенной беременности. В ткани плаценты при доношенной беременности, включая клетки Хофбауэра, в норме экспрессируются гены *TLR2*, *TLR3* и *TLR4* [22, 28]. По данным других авторов, для доношенной беременности также характерна продукция *TLR6* [9, 24].

Большинство исследований посвящено стимуляции плацент бактериальными лигандами *in vitro* [11, 17, 24]. Процессам, происходящим в плаценте непосредственно перед родами или в родах, посвящено не так много работ. Уникальность представленного нами исследования состоит в том, что определены мРНК генов *TLR* во время elective кесарева сечения, то есть оценен потенциал продукции *TLR in vivo*. Это позволяет продемонстрировать состояние Toll-рецепторов в плаценте при физиологически протекающей доношенной беременности.

Цель — оценить уровень экспрессии генов *TLR2*, *TLR4*, *TLR7* в плаценте при доношенной физиологически протекающей беременности, без признаков начала родовой деятельности.

Материалы и методы

Исследование выполнено на базе родильных отделений ГБУЗ «Городская клиническая больница № 1 им. Н.И. Пирогова» (Самара), в него были включены 15 беременных в сроке гестации 37–41 нед. Все пациентки были родоразрешены в плановом порядке путем кесарева сечения, показаниями к которому стали неправильное положение и предлежание плода.

Критерии исключения:

1. Беременные, относящиеся к группе высокого риска, по соматической патологии (сахарный диабет, гестационный диабет), особенностям плацентации и акушерским осложнениям (преэклампсия, синдром задержки развития плода).
2. Наличие острых и обострение хронических воспалительных заболеваний, в том числе наличие кольпита.
3. Применение антибактериальной терапии во время беременности.

Всем пациенткам было выполнено исследование образца плаценты и плодных оболочек методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции с детекцией результатов в режиме реального времени (ОТ-ПЦР) на базе лаборатории молекулярно-генетических методов ООО «НПО ДНК-Технология» (Россия) согласно инструкциям производителя с использованием набора реагентов «Проба-НК» с дополнительной фенольной депротеинизацией. Определяли

уровень экспрессии генов *TLR2*, *TLR4*, *TLR7*. Забор образца плаценты и плодных оболочек проводили в стерильных условиях во время кесарева сечения, в пределах операционного поля. Забор плаценты выполняли посередине расстояния от места прикрепления пуповины до наиболее отдаленной точки края плаценты, с помощью конхотома с диаметром рабочей поверхности 9,4 мм отсекали стандартный образец ткани плаценты, с захватом участка из глубины плаценты (с предварительным отсечением амниона, хорионической пластинки и децидуальной ткани с материнской стороны). Забор плодных оболочек проводили посередине между плацентой и внутренним зевом, с помощью стерильного конхотома с диаметром рабочей поверхности 9,4 мм отсекали стандартный образец плодных оболочек. Полученные образцы помещали в «эппендорфы» с транспортной средой («Проба-НК» производства ООО «НПО ДНК-Технология»).

Результаты обрабатывали с помощью программы MS Excel на основании данных, полученных с помощью детектирующих амплификаторов DTprime. Использован метод сравнения индикаторных циклов (метод ΔCq). Уровень экспрессии генов измеряли в относительных единицах (ОЕ), отражающих представленность транскрипта относительно нормировочного фактора, рассчитанного на основе уровня экспрессии мРНК референсного гена (*B2M*).

Все женщины дали письменное согласие, исследование было одобрено комитетом по биоэтике СамГМУ (протокол № 207 от 20 мая 2020 г.). Гестационный возраст рассчитывали по ультразвуковому исследованию или по первому дню последней менструации.

Морфологическое исследование плаценты проводили после фиксирования тканевых структур в формалине в течение суток, промывки материала проточной водой в течение 1,5–2 ч. Затем материал подвергали дальнейшему уплотнению путем обезвоживания в спирте и заливали гистологические срезы в парафин. После проведения вышеперечисленных этапов материал разрезали на тонкие срезы и накладывали на обезжиренное предметное стекло, с окрашиванием в дальнейшем гематоксилином и эозином. Выявляли признаки и степень инфицирования, признаки плацентарной недостаточности, инволютивно-дистрофические изменения.

Полученные статистические данные обработаны при помощи компьютерной программы Statistica 10 (StatSoft Inc., США). Определяли вид распределения данных с помощью теста Шапиро – Уилка. Описательная

Таблица 1 / Table 1

Уровень экспрессии генов *TLR* в плодных оболочках и плаценте при физиологически протекающей доношенной беременности

TLR gene expression level in fetal membranes and placenta during physiological full-term pregnancy

Показатель	Плодные оболочки		Плацента		Критерий Манна – Уитни
	<i>Me</i>	Q_1 – Q_3	<i>Me</i>	Q_1 – Q_3	
<i>TLR2</i>	0,00592	0,00340–0,01184	0,00729	0,00240–0,01458	$Z = 0,00; p = 1,00$
<i>TLR4</i>	0,00709	0,00224–0,01136	0,00709	0,00560–0,00897	$Z = 0,55; p = 0,58$
<i>TLR7</i>	0,00195	0,00098–0,00542	0,00465	0,00364–0,00515	$Z = 2,21; p = 0,02$

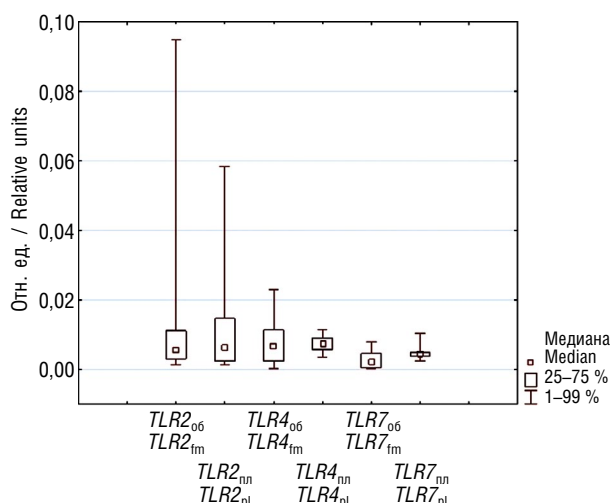


Рис. 1. Экспрессия генов *TLR2*, *TLR4*, *TLR7* в плаценте и плодных оболочках при доношенной беременности

Fig. 1. Expression of *TLR2*, *TLR4*, *TLR7* genes in placenta and fetal membrane during full-term pregnancy

статистика включала в себя определение медианы (*Me*), интерквартильного диапазона (25–75 %) — Q_1 и Q_3 . Сравнения в группах выполнены с применением критерия Манна – Уитни. Корреляции оценены с помощью рангового критерия Спирмена.

Таблица 2 / Table 2

Корреляционная матрица для экспрессии генов *TLR2*, *TLR4*, *TLR7* и массы плаценты, r (p)

Correlation matrix for *TLR2*, *TLR4*, *TLR7* gene expression and placental weight, r (p)

Признак	<i>TLR2</i> _{об}	<i>TLR2</i> _{пл}	<i>TLR4</i> _{об}	<i>TLR4</i> _{пл}	<i>TLR7</i> _{об}	<i>TLR7</i> _{пл}
<i>TLR2</i> _{об}	1,00	0,84 (0,008)	0,92 (0,001)	0,05 (0,905)	0,74 (0,036)	0,58 (0,132)
<i>TLR2</i> _{пл}	0,84 (0,008)	1,00	0,84 (0,008)	0,02 (0,960)	0,966 (0,000)	0,87 (0,004)
<i>TLR4</i> _{об}	0,92 (0,001)	0,83 (0,011)	1,00	0,22 (0,585)	0,79 (0,018)	0,65 (0,079)
<i>TLR4</i> _{пл}	0,05 (0,905)	0,02 (0,96)	0,22 (0,585)	1,00	0,02 (0,951)	0,11 (0,783)
<i>TLR7</i> _{об}	0,74 (0,036)	0,96 (0,000)	0,79 (0,018)	0,02 (0,951)	1,00	0,90 (0,002)
<i>TLR7</i> _{пл}	0,58 (0,132)	0,87 (0,004)	0,65 (0,079)	0,11 (0,783)	0,90 (0,002)	1,00
Масса плаценты, г	0,66 (0,072)	0,80 (0,017)	0,85 (0,007)	0,20 (0,627)	0,85 (0,007)	0,75 (0,032)

Результаты исследования

Медиана возраста обследованных женщин составила 28 лет [28; 34], срок беременности — 39,1 [39; 39,4] нед. В среднем на одну пациентку приходилось $2,53 \pm 1,81$ беременностей, число первородящих — 33,33 %. У беременных отсутствовали тяжелая соматическая патология, хронические и острые воспалительные заболевания. Мазок на степень чистоты у всех пациенток был в норме. Результаты исследования экспрессии генов *TLR* представлены в табл. 1.

Для всех показателей уровень экспрессии был практически равным, только для *TLR7* был отмечен значимо более высокий уровень в плаценте — 0,00465 OE (0,00364–0,00515) по сравнению с плодными оболочками — 0,00195 OE (0,00098–0,00542) (рис. 1).

Максимальный разброс значений нами выявлен для *TLR2* как в плаценте, так и в плодных оболочках, минимальный — для *TLR7*.

Из табл. 2 видно, что уровень *TLR2* в оболочках положительно коррелирует с *TLR2* плаценты и *TLR4* оболочек, а, в свою очередь, *TLR2* плаценты имеет положительную корреляционную связь с *TLR4* и *TLR7* оболочек. Плацентарные *TLR4* и *TLR7* не имеют корреляционных связей с остальными *TLR*.

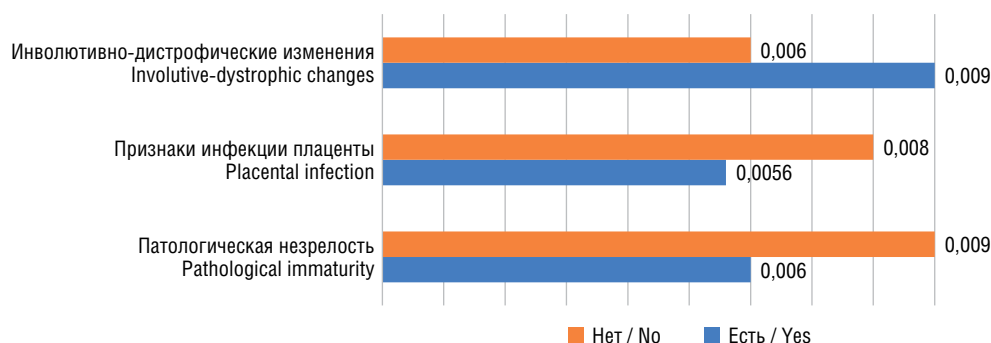


Рис. 2. Уровень экспрессии гена *TLR4* в плаценте при различных ее патолого-анатомических изменениях (относительные единицы, $p < 0,05$)

Fig. 2. The level of the *TLR4* gene expression in the placenta in case of various pathological changes in it (relative units, $p < 0.05$)

С целью оценки влияния связи экспрессии генов *TLR* на новорожденного нами проведен анализ весо-ростовых показателей новорожденных, а также оценки по шкале Апгар. У всех новорожденных весо-ростовые показатели соответствовали норме: вес — 3500 г [3050; 4180], рост — 53 см [51; 57]. Все новорожденные родились с хорошей оценкой по шкале Апгар (1-я минута — 8 [7; 8] баллов; 5-я минута — 8 [8; 9] баллов). Значимых корреляций между росто-весовыми показателями новорожденных и уровнем экспрессии генов *TLR* нами выявлено не было.

Все последы были подвергнуты патолого-анатомическому исследованию. У всех пациенток клинических данных о какой-либо акушерской патологии не было, но при этом в ряде случаев патологоанатомическое исследование продемонстрировало признаки воспалительного процесса и хронической плацентарной недостаточности. Так, соответствие плаценты сроку гестации наблюдалось только в 5 случаях (33,33 %), гипоплазия плаценты — в 2 (13,33 %), патологическая незрелость ворсин — в 9 (60 %), инволютивно-дистрофические нарушения — в 8 (53,33 %), компенсаторные реакции — в 8 (53,33 %), парие-тальный хориоамнионит — в 10 (66,67 %), хроническая плацентарная недостаточность — в 11 (73,33 %), отек плодных оболочек — в 5 (33,33 %) случаях.

Нами был проведен анализ связи гистологических изменений плаценты и плодных оболочек с уровнем экспрессии генов *TLR2*, *TLR4*, *TLR7*. Медиана массы плацент составила 410 г [370; 450]. Уровень экспрессии генов всех вышеперечисленных *TLR* имел значимые положительные корреляции с массой плаценты (табл. 2), кроме *TLR4* в плаценте и *TLR2* в оболочках. Видимо, уровень экспрессии генов в целом зависит от плацен-

тарной массы, как органа, в котором экспрессируются данные гены.

Вышеперечисленные гистологические признаки (есть/нет) особенностей плаценты анализировали с помощью критерия Манна – Уитни, значимые различия были установлены для уровня экспрессии гена *TLR2* в плаценте и патологической незрелости ворсин. У беременных без патологической незрелости ворсин уровень экспрессии *TLR2* плаценты был в десятки раз выше, чем у пациенток с патологической незрелостью (0,012 OE [0,008; 0,014] и 0,002 OE [0,002; 0,006] соответственно, $Z = 2,13$; $p = 0,03$). Основные различия наблюдались для экспрессии гена *TLR4* в плаценте и при гистологических изменениях послеста (рис. 2).

Обсуждение результатов

Основные продуценты *TLRs* при доношенной беременности — децидуальные макрофаги, клетки Хофбауэра. При доношенной беременности экспрессия генов *TLR2*, *TLR3*, *TLR4* [22, 28] в разы превышает таковую в первом триместре.

Представленность *TLRs* в разных отделах репродуктивного тракта строго специфична [18]: эпителиальные клетки влагалища и эндоцервикса экспрессируют гены *TLR1–3*, *TLR5* и *TLR6* [14], эндометриальные клетки — *TLRs* 1–10-го типов, что обусловлено необходимостью ответа на широкий диапазон микробных агентов [6].

Основные рецепторы, распознающие бактериальный компонент на поверхности клеток — *TLR2* и *TLR4*, в свою очередь, запускают продукцию противовоспалительных цитокинов и хемокинов [25, 26]. *TLR7* как внутриклеточный рецептор локализуется в эндосомах и активируется одноцепочечными

молекулами РНК вирусов, служа, наряду с *TLR3* и *TLR9*, компонентом противовирусной системы защиты организма [1].

Инфекционные процессы, в том числе преждевременные роды, хориоамнионит, хронический эндометрит [3] ассоциированы с повышенной экспрессией *TLR4* [1, 5, 25]. А полиморфизм гена *Asp299Gly TLR4* связан с нарушением функции рецептора *TLR4* и повышенной вероятностью грамотрицательного сепсиса [7].

Роль *TLR7* также недостаточно изучена, хотя известно, что данный рецептор участвует в реализации врожденного иммунитета против вирусов (ssРНК вируса) и клеток хозяина (ssРНК хозяина), а также в реализации приобретенного иммунитета. Происходит стимуляция функций антигенраспознающих клеток и регуляторных Т-лимфоцитов, которые начинают активно продуцировать *TLR7*. Так, доказана связь уровня *TLR7* с системной красной волчанкой — заболеванием, ассоциированным с женским полом [13, 19].

Наше исследование позволяет объективно с помощью современных методов (ОТ-ПЦР) оценить состояние Toll-рецепторов в плаценте и плодных оболочках при физиологически протекающей доношенной беременности, их коррелированность между собой. В результате гистологического исследования плаценты были выявлены некоторые закономерности экспрессии Toll-рецепторов: «закулисные» компенсированные воспалительные реакции, без клинических проявлений и каких-либо негативных последствий для матери и плода на фоне повышенной экспрессии *TLR4* в плаценте.

На протяжении всей беременности все *TLR* экспрессируются на границе раздела матери и плода в пространственно-временной области специфическим образом [21, 24]. *TLR2* и *TLR4* экспрессируются в синцитиотрофобластах на протяжении всей беременности, причем наибольшая экспрессия наблюдается в третьем триместре [8, 17], возможно, для сдерживания шейно-вагинальных инфекций, которые могут поставить под угрозу продолжение беременности в этот критический период.

Основные механизмы, контролирующие пространственно-временную регуляцию *TLR* у матери и плода, все еще нуждаются в разяснении. Во время беременности *TLR* экспрессируют клетки трофобласта, клетки Хофбауэра и эндотелиальные клетки, децидуальные и хориоамниотические мембраны. Кроме того, растворимая форма *TLR2* также присутствует в амниотической жидкости [12], что снижает

провоспалительную передачу сигналов лиганда, секвестрирует и, следовательно, снижает активацию *TLR2* в амниотическом эпителии.

Как упоминалось ранее, клетки Хофбауэра обычно считаются неэффективными для контроля вирусных инфекций, даже если они экспрессируют *TLR3*, который распознает двухцепочечную вирусную РНК [28]. Тем не менее повышенная секреция интерлейкинов 6 и 8 клетками Хофбауэра наблюдалась после обработки полисинтетическим аналогом двухцепочечной РНК, что свидетельствует о важной роли этих клеток в контроле вирусных инфекций [28]. С другой стороны, клетки Хофбауэра активно экспрессируют *TLR2* и *TLR4* [22, 28], что позволяет им легко реагировать на грамположительные и грамотрицательные бактерии. Фактически, клетки Хофбауэра у пациентов с хориоамнионитом сверхэкспрессируют *TLR4*, возможно, для усиления воспалительных сигналов, сдерживающих бактериальные инфекции [22].

Интересно, что децидуальная оболочка первого триместра продуцирует в два раза или даже больше мРНК для большинства *TLR* по сравнению с децидуальной тканью при доношенной беременности, за исключением *TLR2*, *TLR7* и *TLR9*, экспрессия которых оставалась постоянной на протяжении всей беременности [20]. Подобный паттерн экспрессии *TLR*, вероятно, связан с потребностью в более безопасной среде для высокоактивной децидуальной оболочки в начале беременности, тогда как в третьем триместре плацента берет на себя мониторинг и контроль уровня воздействия микробного антигена. Клинически значимое повышение *TLR2* было продемонстрировано в децидуальной ткани при преждевременных родах, связанных с инфекцией [14, 18].

Что касается хориоамниотических мембран, они экспрессируют все десять *TLR* на протяжении всей беременности [5, 16]. В частности, экспрессия *TLR4* на апикальной стороне амниотического эпителия позволяет ему реагировать на наличие возбудителя в околоплодных водах. Эта экспрессия *TLR4* вместе с *TLR2* индуцируется при хориоамнионите [27]. Кроме того, продемонстрировано, что прогестерон уменьшает хориоамниотическую экспрессию *TLR4*. Возможно, это компенсаторный механизм для ограничения продукции провоспалительных цитокинов в случае воздействия воспалительного стимула, который может подвергнуть опасности мать или плод [15].

В нашем исследовании уровни экспрессии *TLR4* и *TLR7* в плаценте не зависели от других

показателей (*TLR2* — в оболочках и плаценте, *TLR4* и *TLR7* — в оболочках), связанных между собой. Вероятно наличие данных корреляций связано с распределением клеток (моноцитов, макрофагов, дендритных клеток, эпителиальных клеток, а особенно — клеток Хофбауэра). Клетки Хофбауэра располагаются исключительно в плаценте и, по всей видимости, экспрессия *TLR4* и *TLR7* в плаценте происходит изолированно, тогда как остальные Toll-подобные рецепторы были связаны между собой. Их минимальный разброс также свидетельствует в пользу определенной стабильности в глубине тканей плаценты этих показателей, в то время как вероятность контакта оболочек с микроорганизмами урогенитального тракта выше и, соответственно, размах этих показателей варьирует сильнее.

Достаточно сложно сравнивать наши результаты экспрессии генов с результатами других авторов, так как нормализация проводится по разным референсным генам, однако можно сделать вывод, что наиболее значимым показателем реакции на воспалительный процесс, особенно бактериального происхождения, является *TLR4*, что соответствует полученным результатам и данным литературы [15, 27]. Только для этого показателя мы получили статистически значимые различия: при инволютивно-дистрофических и воспалительных изменениях в плаценте экспрессия *TLR4* была выше, но при наличии патологической незрелости ворсин уровень *TLR4* был ниже, чем в плацентах с нормальным созреванием ворсин. Для остальных *TLR* значимых различий выявлено не было.

Физиологическое значение присутствия *TLR* в тканях гестации в том, что возможная инфекция мочеполовых путей может прервать беременность из-за раннего развития сигналов, связанных с родами, вызывая преждевременный разрыв плодных оболочек, что этиологически в большинстве случаев ассоциировано с внутриутробными бактериальными инфекциями [27].

Заключение

Из исследованных Toll-подобных рецепторов наиболее чувствительный индикатор воспалительного процесса — экспрессия *TLR4* в плаценте, которая уже на доклиническом этапе коррелирует с инволютивно-дистрофическими и воспалительными изменениями в плаценте. Уровень экспрессии *TLR* в плодных оболочках и плаценте значимо не различался, только для *TLR7* экспрессия в плаценте была почти в 2 раза выше, чем

в плодных оболочках. Эти два показателя не имели корреляций с оставшимися *TLRs*, которые между собой имеют сильные положительные корреляции. Экспрессия *TLR* закономерно зависела от массы плаценты.

Таким образом, исследование экспрессии *TLR* должно стать важным показателем в диагностике воспалительного процесса на уровне фетоплацентарного комплекса, так как эти гены — основные звенья в реализации врожденного антибактериального и противовирусного иммунитета.

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Белоусова В.С., Стрижаков А.Н., Свитич О.А. и др. Преждевременные роды: причины, патогенез, тактика // Акушерство и гинекология. 2020. № 2. С. 82–87. DOI: 10.18565/aig.2020.2.82-87
2. Жидкова И.И., Понасенко А.В., Хуторная М.В. и др. Генетические факторы (гены рецепторов врожденного иммунитета — *TLRs*) в патогенезе атеросклероза и его осложнений // Медицинская иммунология. 2017. Т. 19, № 3. С. 241–254. DOI: 10.15789/1563-0625-2017-3
3. Коган Е.А., Гомболевская Н.А., Демур Т.А. и др. Роль toll-like рецепторов 2-го, 4-го, 9-го типов в патогенезе хронического эндометрита // Акушерство и гинекология. 2015. № 12. С. 81–88.
4. Хаитов Р.М. Иммунология: учебник для студентов медицинских вузов. М., 2006.
5. Abrahams V.M., Potter J.A., Geeta B. et al. Bacterial modulation of human fetal membrane toll-like receptor expression // Am. J. Reprod. Immunol. 2013. Vol. 69, No. 1. P. 33–40. DOI: 10.1111/aji.12016
6. Aflatoonian R., Fazeli A. Toll-like receptors in female reproductive tract and their menstrual cycle dependent expression // J. Reprod. Immunol. 2008. Vol. 77, No. 1. P. 7–13. DOI: 10.1016/j.jri.2007.03.014
7. Agnese D.M., Calvano J.E., Hahm S.J. et al. Human toll-like receptor 4 mutations but not CD14 polymorphisms are associated with an increased risk of gram-negative infections // J. Infect. Dis. 2002. Vol. 186, No. 10. P. 1522–1525. DOI: 10.1086/344893
8. Beijar E.C., Mallard C., Powell T.L. Expression and subcellular localization of TLR-4 in term and first trimester human placenta // Placenta. 2006. Vol. 27, No. 2–3. P. 322–326. DOI: 10.1016/j.placenta.2004.12.012
9. Bryant A.H., Thornton C.A. Cytokines and the innate immune response at the materno-fetal interface // Recent Advances in Research on the Human Placenta. 2012. P. 181–202. DOI: 10.5772/33219
10. Dabagh-Gorjani F., Anvari F., Zolghadri J. et al. Differences in the expression of *TLRs* and inflammatory cytokines in preeclamptic compared with healthy

- pregnant women // Iran. J. Immunol. 2014. Vol. 11, No. 4. P. 233–245.
11. De Nardo D. Toll-like receptors: Activation, signalling and transcriptional modulation // *Cytokine*. 2015. Vol. 74, No. 2. P. 181–189. DOI: 10.1016/j.cyto.2015.02.025
 12. Dulay A.T., Buhimschi C.S., Zhao G. et al. Soluble TLR2 is present in human amniotic fluid and modulates the intraamniotic inflammatory response to infection // *J. Immunol.* 2009. Vol. 182, No. 11. P. 7244–7253. DOI: 10.4049/jimmunol.0803517
 13. Eng H.L., Hsu Y.Y., Lin T.M. Differences in TLR7/8 activation between monocytes and macrophages // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2018. Vol. 497, No. 1. P. 319–325. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.02.079
 14. Fichorova R.N., Cronin A.O., Lien E. et al. Response to *Neisseria gonorrhoeae* by cervicovaginal epithelial cells occurs in the absence of toll-like receptor 4-mediated signaling // *J. Immunol.* 2002. Vol. 168, No. 5. P. 2424–2432. DOI: 10.4049/jimmunol.168.5.2424
 15. Flores-Espinosa P., Pineda-Torres M., Vega-Sanchez R. et al. Progesterone elicits an inhibitory effect upon LPS-induced innate immune response in pre-labor human amniotic epithelium // *Am. J. Reprod. Immunol.* 2014. Vol. 71, No. 1. P. 61–72. DOI: 10.1111/aji.12163
 16. Hoang M., Potter J.A., Gysler S.M. et al. Human fetal membranes generate distinct cytokine profiles in response to bacterial Toll-like receptor and nod-like receptor agonists // *Biol. Reprod.* 2014. Vol. 90, No. 2. P. 39. DOI: 10.1095/biolreprod.113.115428
 17. Holmlund U., Cebers G., Dahlfors A.R. et al. Expression and regulation of the pattern recognition receptors Toll-like receptor-2 and Toll-like receptor-4 in the human placenta // *Immunology*. 2002. Vol. 107, No. 1. P. 145–151. DOI: 10.1046/j.1365-2567.2002.01491.x
 18. Horne A.W., Stock S.J., King A.E. Innate immunity and disorders of the female reproductive tract // *Reproduction*. 2008. Vol. 135, No. 6. P. 739–749. DOI: 10.1530/REP-07-0564
 19. Kim Y.M., Romero R., Oh S.Y. et al. Toll-like receptor 4: a potential link between “danger signals,” the innate immune system, and preeclampsia? // *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2005. Vol. 193, No. 3 Pt 2. P. 921–927. DOI: 10.1016/j.ajog.2005.07.076
 20. Krikun G., Lockwood C.J., Abrahams V.M. et al. Expression of Toll-like receptors in the human decidua // *Histol. Histopathol.* 2007. Vol. 22, No. 8. P. 847–854. DOI: 10.14670/HH-22.847
 21. Koga K., Mor G. Toll-like receptors at the maternal-fetal interface in normal pregnancy and pregnancy disorders // *Am. J. Reprod. Immunol.* 2010. Vol. 63, No. 6. P. 587–600. DOI: 10.1111/j.1600-0897.2010.00848.x
 22. Kumazaki K., Nakayama M., Yanagihara I. Immunohistochemical distribution of Toll-like receptor 4 in term and preterm human placentas from normal and complicated pregnancy including chorioamnionitis // *Hum. Pathol.* 2004. Vol. 35, No. 1. P. 47–54. DOI: 10.1016/j.humpath.2003.08.027
 23. McCarthy C.G., Goulopoulou S., Wenceslau C.F. et al. Toll-like receptors and damage-associated molecular patterns: novel links between inflammation and hypertension // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2014. Vol. 306, No. 2. P. H184–196. DOI: 10.1152/ajpheart.00328.2013
 24. Olmos-Ortiz A., Flores-Espinosa P., Mancilla-Herrera I. et al. Innate immune cells and toll-like receptor-dependent responses at the maternal-fetal interface // *Int. J. Mol. Sci.* 2019. Vol. 20, No. 15. P. 3654. DOI: 10.3390/ijms20153654
 25. Patni S., Wynen L.P., Seager A.L. et al. Expression and activity of Toll-like receptors 1-9 in the human term placenta and changes associated with labor at term // *Biol. Reprod.* 2009. Vol. 80, No. 2. P. 243–248. DOI: 10.1095/biolreprod.108.069252
 26. Patni S., Bryant A.H., Wynen L.P. et al. Functional activity but not gene expression of toll-like receptors is decreased in the preterm versus term human placenta // *Placenta*. 2015. Vol. 36, No. 9. P. 1031–1038. DOI: 10.1016/j.placenta.2015.06.017
 27. Tchirikov M., Schlubitz-Loutsevitch N., Maher J. et al. Mid-trimester preterm premature rupture of membranes (PPROM): Etiology, diagnosis, classification, international recommendations of treatment options and outcome // *J. Perinat. Med.* 2018. Vol. 46, No. 5. P. 465–488. DOI: 10.1515/jpm-2017-0027
 28. Young O.M., Tang Z., Niven-Fairchild T. et al. Toll-like receptor-mediated responses by placental Hofbauer cells (HBCs): A potential pro-inflammatory role for fetal M2 macrophages // *J. Reprod. Immunol.* 2015. Vol. 73, No. 1. P. 22–35. DOI: 10.1111/aji.12336

References

1. Belousova VS, Strizhakov AN, Svitich OA, et al. Prezhdevremennyye rody: prichiny, patogenez, taktika. *Obstetrics and Gynecology*. 2020;(2):82–87. (In Russ.). DOI: 10.18565/aig.2020.2.82-87
2. Zhidkova II, Ponasenko AV, Hutornaja MV, et al. Genomic factors (Toll-like receptors genes) in development of atherosclerosis and its clinical manifestations. *Medical Immunology (Russia)*. 2017;19(3):241–254. (In Russ.). DOI: 10.15789/1563-0625-2017-3
3. Kogan EA, Gombolevskaja NA, Demura TA, et al. Role of toll-like receptors 2, 4, 9 in the endometrium in chronic endometritis. *Obstetrics and Gynecology*. 2015;(12):81–88. (In Russ.)
4. Haitov RM. Immunologiya: uchebnik dlja studentov medicinskih vuzov. Moscow; 2006. (In Russ.)
5. Abrahams VM, Potter JA, Geeta B, et al. Bacterial modulation of human fetal membrane toll-like receptor expression. *Am J Reprod Immunol*. 2013;69(1):33–40. DOI: 10.1111/aji.12016
6. Aflatoonian R, Fazeli A. Toll-like receptors in female reproductive tract and their menstrual cycle dependent expression. *J Reprod Immunol*. 2008;77(1):7–13. DOI: 10.1016/j.jri.2007.03.014
7. Agnese DM, Calvano JE, Hahm SJ, et al. Human toll-like receptor 4 mutations but not CD14 polymorphisms are associated with an increased risk of gram-negative

- infections. *J Infect Dis.* 2002;186(10):1522–1525. DOI: 10.1086/344893
8. Beijar EC, Mallard C, Powell TL. Expression and subcellular localization of TLR-4 in term and first trimester human placenta. *Placenta.* 2006;27(2–3):322–326. DOI: 10.1016/j.placenta.2004.12.012
 9. Bryant AH, Thornton CA. Cytokines and the innate immune response at the materno-fetal interface. In: *Recent Advances in Research on the Human Placenta.* 2012. P. 181–202. DOI: 10.5772/33219
 10. Dabagh-Gorjani F, Anvari F, Zolghadri J, et al. Differences in the expression of TLRs and inflammatory cytokines in preeclamptic compared with healthy pregnant women. *Iran J Immunol.* 2014;11(4):233–245.
 11. De Nardo D. Toll-like receptors: Activation, signalling and transcriptional modulation. *Cytokine.* 2015;74(2):181–189. DOI: 10.1016/j.cyt.2015.02.025
 12. Dulay AT, Buhimschi CS, Zhao G, et al. Soluble TLR2 is present in human amniotic fluid and modulates the intraamniotic inflammatory response to infection. *J Immunol.* 2009;182(11):7244–7253. DOI: 10.4049/jimmunol.0803517
 13. Eng HL, Hsu YY, Lin TM. Differences in TLR7/8 activation between monocytes and macrophages. *Biochem Biophys Res Commun.* 2018;497(1):319–325. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.02.079
 14. Fichorova RN, Cronin AO, Lien E, et al. Response to *Neisseria gonorrhoeae* by cervicovaginal epithelial cells occurs in the absence of toll-like receptor 4-mediated signaling. *J Immunol.* 2002;168(5):2424–2432. DOI: 10.4049/jimmunol.168.5.2424
 15. Flores-Espinosa P, Pineda-Torres M, Vega-Sanchez R, et al. Progesterone elicits an inhibitory effect upon LPS-induced innate immune response in pre-labor human amniotic epithelium. *Am J Reprod Immunol.* 2014;71(1):61–72. DOI: 10.1111/aji.12163
 16. Hoang M, Potter JA, Gysler SM, et al. Human fetal membranes generate distinct cytokine profiles in response to bacterial Toll-like receptor and nod-like receptor agonists. *Biol Reprod.* 2014;90(2):39. DOI: 10.1095/biolreprod.113.115428
 17. Holmlund U, Cebers G, Dahlfors AR, et al. Expression and regulation of the pattern recognition receptors Toll-like receptor-2 and Toll-like receptor-4 in the human placenta. *Immunology.* 2002;107(1):145–151. DOI: 10.1046/j.1365-2567.2002.01491.x
 18. Horne AW, Stock SJ, King AE. Innate immunity and disorders of the female reproductive tract. *Reproduction.* 2008;135(6):739–749. DOI: 10.1530/REP-07-0564
 19. Kim YM, Romero R, Oh SY, et al. Toll-like receptor 4: a potential link between “danger signals,” the innate immune system, and preeclampsia? *Am J Obstet Gynecol.* 2005;193(3 Pt 2):921–927. DOI: 10.1016/j.ajog.2005.07.076
 20. Krikun G, Lockwood CJ, Abrahams VM, et al. Expression of Toll-like receptors in the human decidua. *Histol Histopathol.* 2007;22(8):847–854. DOI: 10.14670/HH-22.847
 21. Koga K, Mor G. Toll-like receptors at the maternal-fetal interface in normal pregnancy and pregnancy disorders. *Am J Reprod Immunol.* 2010;63(6):587–600. DOI: 10.1111/j.1600-0897.2010.00848.x
 22. Kumazaki K, Nakayama M, Yanagihara I. Immunohistochemical distribution of Toll-like receptor 4 in term and preterm human placentas from normal and complicated pregnancy including chorioamnionitis. *Hum Pathol.* 2004;35(1):47–54. DOI: 10.1016/j.humpath.2003.08.027
 23. McCarthy CG, Goulopoulou S, Wenceslau CF, et al. Toll-like receptors and damage-associated molecular patterns: novel links between inflammation and hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2014;306(2):H184–196. DOI: 10.1152/ajpheart.00328.2013
 24. Olmos-Ortiz A, Flores-Espinosa P, Mancilla-Herrera I, et al. Innate immune cells and toll-like receptor-dependent responses at the maternal-fetal interface. *Int J Mol Sci.* 2019;20(15):3654. DOI: 10.3390/ijms20153654
 25. Patni S, Wynen LP, Seager AL, et al. Expression and activity of Toll-like receptors 1–9 in the human term placenta and changes associated with labor at term. *Biol Reprod.* 2009;80(2):243–248. DOI: 10.1095/biolreprod.108.069252
 26. Patni S, Bryant AH, Wynen LP, et al. Functional activity but not gene expression of toll-like receptors is decreased in the preterm versus term human placenta. *Placenta.* 2015;36(9):1031–1038. DOI: 10.1016/j.placenta.2015.06.017
 27. Tchirikov M, Schlubritsch-Loutsevitch N, Maher J, et al. Mid-trimester preterm premature rupture of membranes (PPROM): Etiology, diagnosis, classification, international recommendations of treatment options and outcome. *J Perinat Med.* 2018;46(5):465–488. DOI: 10.1515/jpm-2017-0027
 28. Young OM, Tang Z, Niven-Fairchild T, et al. Toll-like receptor-mediated responses by placental Hofbauer cells (HBCs): A potential pro-inflammatory role for fetal M2 macrophages. *J Reprod Immunol.* 2015;73(1):22–35. DOI: 10.1111/aji.12336

■ Информация об авторах

Мария Александровна Казанова — кандидат медицинских наук, доцент кафедры акушерства и гинекологии ИПО. ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия. E-mail: mkaganova@yandex.ru

■ Information about the authors

Maria A. Kaganova — Candidate of Medical Science, Associate Professor, Obstetrics and Gynecology Department, IPE. Samara State Medical University, Samara, Russia. E-mail: mkaganova@yandex.ru