

ЭКСПРЕССИЯ M2-АССОЦИИРОВАННЫХ МОЛЕКУЛ В СУБПОПУЛЯЦИЯХ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ МОНОЦИТОВ У ФЕРТИЛЬНЫХ НЕБЕРЕМЕННЫХ И БЕРЕМЕННЫХ С НЕОСЛОЖНЕННОЙ ГЕСТАЦИЕЙ

Шевела Е.Я.¹, Бухтуева Н.Г.², Тихонова М.А.¹, Леплина О.Ю.¹,
Пасман Н.М.³, Черных Е.Р.¹

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»,
г. Новосибирск, Россия

² ГБУЗ НСО «Городская больница № 1», г. Новосибирск, Россия

³ Институт медицины и психологии ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский
государственный университет», г. Новосибирск, Россия

Резюме. Циркулирующие моноциты включают у человека классические (CD14⁺⁺CD16⁻), промежуточные (CD14⁺⁺CD16⁺) и неклассические/альтернативные (CD14⁺CD16⁺⁺) моноциты, которые, в свою очередь, могут активироваться по классическому или альтернативному пути. Беременность сопровождается существенными изменениями в компартменте моноцитов, что проявляется повышением количества циркулирующих моноцитов, в том числе доли промежуточных моноцитов, и изменением их функции. Однако функциональные свойства субпопуляций моноцитов при гестации остаются во многом неисследованными. Мы предположили, что циркулирующие моноциты могут активироваться по альтернативному типу и приобретать признаки M2-поляризации (противовоспалительные/иммуносупрессивные свойства). Целью работы явилось исследование M2-ассоциированных маркеров, характеризующих противовоспалительный и иммуносупрессивный потенциал миелоидных клеток, в субпопуляциях циркулирующих моноцитов у фертильных небеременных и женщин с неосложненной гестацией во втором триместре. Показано, что у фертильных небеременных женщин промежуточные и неклассические моноциты характеризуются более высокой экспрессией M2-ассоциированных маркеров (CD206, Arginase 1, MerTK) по сравнению с классическими моноцитами. Во втором триместре беременности экспрессия указанных молекул на моноцитах статистически значимо возрастает, что проявляется: 1) возрастанием доли CD206⁺ клеток в субпопуляциях классических и промежуточных моноцитов, 2) увеличением средней интенсивности флюоресценции Arginase 1 во всех субпопуляциях моноцитов, 3) повышением доли MerTK⁺ клеток в субпопуляциях классических и промежуточных моноцитов и средней интенсивности флюоресценции во всех субпопуляциях моноцитов. При этом наибольшее содержание CD206⁺ и MerTK⁺ клеток у беременных выявляется в субпо-

Адрес для переписки:

Шевела Екатерина Яковлевна
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
фундаментальной и клинической иммунологии»
630099, Россия, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14.
Тел.: 8 (383) 228-21-01.
Факс: 8 (383) 222-70-28.
E-mail: shevelak@mail.ru; ct_lab@mail.ru

Address for correspondence:

Ekaterina Ya. Shevela
Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology
630099, Russian Federation, Novosibirsk,
Yadrintsevskaya str., 14.
Phone: +7 (383) 228-21-01.
Fax: +7 (383) 222-70-28.
E-mail: shevelak@mail.ru; ct_lab@mail.ru

Образец цитирования:

Е.Я. Шевела, Н.Г. Бухтуева, М.А. Тихонова,
О.Ю. Леплина, Н.М. Пасман, Е.Р. Черных «Экспрессия
M2-ассоциированных молекул в субпопуляциях
циркулирующих моноцитов у фертильных небеременных
и беременных с неосложненной гестацией»
// Медицинская иммунология, 2022. Т. 24, № 6.
С. 1151-1158. doi: 10.15789/1563-0625-EOM-2524

© Шевела Е.Я. и соавт., 2022
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

E. Ya. Shevela, N. G. Bukhtueva, M. A. Tikhonova,
O. Yu. Leplina, N. M. Pasman, E. R. Chernykh "Expression
of M2-associated molecules in circulating monocyte subsets
in fertile non-pregnant women and pregnant women with
uncomplicated pregnancy", Medical Immunology (Russia)/
Meditsinskaya Immunologiya, 2022, Vol. 24, no. 6,
pp. 1151-1158. doi: 10.15789/1563-0625-EOM-2524

© Shevela E. Ya. et al., 2022
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.15789/1563-0625-EOM-2524

пуляции промежуточных моноцитов, а наиболее высокие показатели средней интенсивности флюоресценции Arginase 1 и MerTK – в субпопуляциях промежуточных и неклассических моноцитов. Полученные данные демонстрируют, что моноциты беременных во втором триместре беременности характеризуются признаками M2-поляризации. Это подтверждается не только усилением экспрессии M2-ассоциированного маннозного рецептора CD206, но и усилением экспрессии Arginase 1 и MerTK, опосредующих иммуносупрессивную активность миелоидных клеток и, в частности, макрофагов M2-фенотипа. Дальнейшие исследования M2-ассоциированных маркеров в субпопуляциях моноцитов в динамике гестации позволят более детально охарактеризовать регуляторную роль циркулирующих миелоидных клеток при беременности.

Ключевые слова: субпопуляции моноцитов, M2-поляризация, беременность, маннозный рецептор, аргиназа-1, тирозинкиназа Mer

EXPRESSION OF M2-ASSOCIATED MOLECULES IN CIRCULATING MONOCYTE SUBSETS IN FERTILE NON-PREGNANT WOMEN AND PREGNANT WOMEN WITH UNCOMPLICATED PREGNANCY

Shevela E.Ya.^a, Bukhtueva N.G.^b, Tikhonova M.A.^a, Leplina O.Yu.^a,
Pasman N.M.^c, Chernykh E.R.^a

^a Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

^b City Hospital No. 1, Novosibirsk, Russian Federation

^c Institute of Medicine and Psychology, Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russian Federation

Abstract. In humans circulating monocytes include classical (CD14⁺⁺CD16⁻), intermediate (CD14⁺⁺CD16⁺) and non-classical/alternative (CD14⁺CD16⁺⁺) monocytes, which in turn can be activated via the classical or alternative pathway. Pregnancy is accompanied by significant changes in the monocyte compartment, which is manifested by an increase in the number of circulating monocytes, including the proportion of intermediate monocytes, and a change in their function. However, the functional properties of monocyte subsets during gestation remain largely unexplored. We hypothesized that circulating monocytes may be activated in an alternative pattern and acquire features of M2 polarization (anti-inflammatory / immunosuppressive properties). The aim of the investigation was to study M2-associated markers that characterize the anti-inflammatory and immunosuppressive potential of myeloid cells in subpopulations of circulating monocytes in fertile non-pregnant women and women with uncomplicated pregnancy in the 2nd trimester. It was shown that in fertile non-pregnant women intermediate and non-classical monocytes are characterized by a higher expression of M2-associated markers (CD206, Arginase 1, MerTK) compared to classical monocytes. In the 2nd trimester of pregnancy, the expression of these molecules on monocytes increases significantly, which is manifested by 1) an increase in the proportion of CD206⁺ cells in subpopulations of classical and intermediate monocytes, 2) an increase in the mean fluorescence intensity of Arginase 1 in all monocyte subsets, 3) an increase in the proportion of MerTK⁺ cells in subpopulations of classical and intermediate monocytes and mean fluorescence intensity across all monocyte subsets. The highest content of CD206⁺ and MerTK⁺ cells in pregnant women is detected in the subpopulation of intermediate monocytes, and the highest values of the mean fluorescence intensity of Arginase 1 and MerTK – in the subpopulations of intermediate and non-classical monocytes. The data obtained demonstrate that monocytes of pregnant women in the 2nd trimester of pregnancy are characterized by signs of M2 polarization. This is confirmed not only by an increase in the expression of the M2-associated mannose receptor CD206, but also by an increase in the expression of Arginase 1 and MerTK, which mediate the immunosuppressive activity of myeloid cells and, in particular, macrophages of the M2 phenotype. Further studies of M2-associated markers in monocyte subpopulations during gestation will allow a more detailed characterization of the regulatory role of circulating myeloid cells during pregnancy.

Keywords: monocyte subsets, M2 polarization, pregnancy, mannose receptor, arginase 1, Mer tyrosine kinase

Работа выполнена за счет средств федерального бюджета на проведение фундаментальных научных исследований (№ гос. регистрации в ЕГИСУ НИОКТР 122011800324-4).

Введение

Моноциты являются высоко пластичной популяцией клеток врожденного иммунитета, которые представлены в кровотоке гетерогенной популяцией и включают у человека классические (CD14⁺⁺CD16⁻), промежуточные (CD14⁺⁺CD16⁺) и неклассические/альтернативные (CD14⁺CD16⁺⁺) моноциты [18]. Эти субпопуляции отражают последовательные стадии дифференцировки моноцитов, которые характеризуются различными функциями и ассоциацией с патологиями [5]. При этом данные о функциональной активности различных субпопуляций моноцитов при патологии крайне противоречивы [5], что может объясняться особенностями активации этих клеток. Подобно макрофагам, моноциты могут приобретать оппозитные функции в зависимости от активации клеток по классическому или альтернативному пути. Классически активированные моноциты (M1 моноциты) продуцируют провоспалительные цитокины и активируют Th1-ответ, тогда как альтернативно активированные моноциты продуцируют противовоспалительные цитокины (в том числе IL-10) и индуцируют Th2-ответ [9, 10].

Беременность сопровождается существенными изменениями в компартменте моноцитов, что проявляется возрастанием доли циркулирующих моноцитов, усилением экспрессии маркеров активации (CD11b, CD64) и продукции свободных радикалов кислорода и одновременным снижением ЛПС-стимулированной секреции цитокинов [8, 15]. При этом изменения в субпопуляционной структуре моноцитов манифестируют возрастанием доли промежуточных моноцитов [17]. Однако функциональные свойства этих клеток, а также других субпопуляций моноцитов, при гестации остаются во многом неисследованными.

Учитывая доминирование активности Th2-клеток на протяжении большего срока гестации, мы предположили, что циркулирующие моноциты могут активироваться по альтернативному типу и приобретать признаки M2-поляризации (противовоспалительные/иммуносупрессивные свойства). При этом усиление экспрессии M2-ассоциированных молекул, в том числе опосредующих супрессорный потенциал миелоидных клеток, может свидетельствовать об эф-

фективности перестройки иммунной системы при беременности. Известно, что одной из M2-ассоциированных молекул является маннозный рецептор CD206 [9]. В отношении молекул, опосредующих супрессорную функцию миелоидных клеток, особое внимание привлекают два фермента – аргиназа-1 (Arginase 1, Arg1) и мертирозинкиназа Mer (MerTK). Недостаточность аргинина вследствие его расщепления аргиназой оказывает ингибирующий эффект на T-клетки, а продукты метаболизма аргинина (орнитин, полиамины, пролин) необходимы для обеспечения пролиферации различных клеток [13]. MerTK на поверхности макрофагов является рецептором эффероцитоза и активирует сигнальный путь, приводящий к образованию липоксинов и резолвинов, которые подавляют иммунный ответ (усиливают дифференцировку моноцитов в макрофаги M2-фенотипа, смещают баланс Th17/Treg в сторону Treg) [4]. Кроме того, сигналинг через MerTK приводит к подавлению активности NF-κB и снижению LPS-индуцированной продукции провоспалительных цитокинов/хемокинов, а также возрастанию продукции IL-10, TGF-β и HGF, что способствует усилению супрессорных и прорепаративных эффектов макрофагов [6]. Однако у человека сведения об экспрессии Arg1 и MerTK в субпопуляциях моноцитов и их изменениях при беременности отсутствуют.

Исходя из вышесказанного, **целью настоящего исследования** явилось изучение экспрессии M2-ассоциированных маркеров, характеризующих противовоспалительный и иммуносупрессивный потенциал миелоидных клеток, в субпопуляциях циркулирующих моноцитов у фертильных небеременных и женщин с неосложненной гестацией.

Материалы и методы

Настоящее исследование проводили в рамках фундаментальных научных исследований. За период с сентября 2021 г. по февраль 2022 г. в исследование были рекрутированы 20 беременных на сроке гестации от 17 до 23 недель, в возрасте от 17 до 39 лет. Среди них первая беременность имела место у 11 (55%) женщин, высокий паритет родов (3 и 7) отмечался только у 2 (10%) женщин. В подавляющем большинстве (95%) случаев беременность наступила в естественном цикле и только в одном – с использованием методов вспомогательных репродуктивных технологий. Анализ соматического анамнеза не выявил значительных заболеваний: у 6 женщин отмечалось снижение функции щитовидной железы, что эндемически

характерно для Новосибирской области. Беременности в исследуемой группе протекали без осложнений, средняя прибавка массы тела составила 2,5 кг. На малом сроке беременности пять беременных перенесли ОРВИ, а две – подтвержденную лабораторно новую коронавирусную инфекцию. Вирусные заболевания протекали в легкой форме, и госпитализация в инфекционный стационар не требовалась. Группу сравнения составили 11 здоровых женщин без отягощенного соматического анамнеза с нормальной массой тела (ИМТ от 18 до 25 кг/м³) в возрасте от 23 до 42 лет, имеющих в анамнезе от 1 до 7 беременностей и не менее 1 родов. Забор крови в большинстве случаев осуществлялся на 4-7-й дни менструального цикла. Семь из 11 женщин на момент исследования не принимали лекарственные препараты в непрерывном режиме, в том числе комбинированные оральные контрацептивы. Исследования проводились после получения от всех участников письменного информированного согласия.

Мононуклеарные клетки (МНК) выделяли методом центрифугирования гепаринизированной крови в градиенте плотности фикола-верографина ($\rho = 1,078$). Лизис эритроцитов при необходимости проводили раствором VersaLyse (BeckmanCoulter, Франция) в соответствии с инструкцией. Оценку «классических» (кМо, CD14⁺CD16⁻), «промежуточных» (пМо, CD14⁺CD16⁺) и «неклассических» (нМо, CD14⁺CD16⁺) моноцитов проводили по общепринятой методике с использованием PerCP, FITC- и PE-меченых моноклональных анти-HLA-DR, анти-CD14 и анти-CD16 антител, соответственно (BD PharMingen, США).

Относительное содержание MerTK⁺ клеток определяли в гейте HLA-DR (PerCP)-позитивных клеток с использованием AlexaFluor 647 анти-MerTK (Biolegend) антител. Для оценки внутриклеточной экспрессии аргиназы 1 (Arg1) клетки, меченные анти-HLA-DR антителами, обрабатывали пермеабилзирующими растворами (Transcription Factor Buffer Set, BD Pharmingen) и метили APC-конъюгированными анти-Arg1 антителами (RD Systems).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета программ Statistica 6.0. Данные представлены в виде медианных значений (Me) и квартильного диапазона (Q_{0,25}-Q_{0,75}). Для выявления значимых различий сравниваемых показателей использовали U-критерий Манна–Уитни.

Результаты

Субпопуляции моноцитов

В периферической крови фертильных женщин (контрольная группа) доминирующая субпопуляция моноцитов была представлена классическими моноцитами (табл. 1), тогда как доля промежуточных и неклассических моноцитов совокупно не превышала 10%. Большинство клеток в общей популяции моноцитов (77%) экспрессировали молекулы HLA-DR. По сравнению с контрольной группой, у беременных наблюдалось достоверное увеличение относительного содержания HLA-DR⁺ моноцитов (89% vs 77%, $p = 0,037$). Также отмечалась выраженная тенденция к возрастанию доли промежуточных моноцитов. При этом регистрировалось снижение

ТАБЛИЦА 1. ОТНОСИТЕЛЬНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАЗЛИЧНЫХ СУБПОПУЛЯЦИЙ МОНОЦИТОВ В ЦИРКУЛЯЦИИ ЖЕНЩИН ОСНОВНОЙ И КОНТРОЛЬНОЙ ГРУПП, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 1. RELATIVE CONTENT OF DIFFERENT MONOCYTE SUBPOPULATIONS IN THE CIRCULATION OF WOMEN IN THE STUDY AND CONTROL GROUPS, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Группы Groups	n	HLA-DR	кМо сМо CD14 ⁺ CD16 ⁻	пМо iМо CD14 ⁺ CD16 ⁺	нМо nМо CD14 ⁺ CD16 ⁺
Небеременные (контроль) Nonpregnant (Control)	11	77 (75-80)	88 (86-91)	3,9 (2,1-4,7)	2,6 (2,0-3,6)
Беременные (17-20 нед.) Pregnant (17-20 weeks)	20	89* (81-94)	90,5 (86-92)	4,6 (3,7-6,1)	2,1 (2,0-2,9)

Примечание. * – $p < 0,05$ – достоверность различий с контрольной группой (по критерию Манна–Уитни).

Note. *, $p < 0,05$, significance of differences with the control group (according to the Mann–Whitney test).

индекса соотношения кМо/пМо с 26,2 до 19,5 ($p = 0,05$).

Анализ экспрессии M2-ассоциированных маркеров в различных субпопуляциях моноцитов у фертильных небеременных показал (табл. 2), что минимальное содержание CD206⁺ клеток выявлялось среди кМо. Содержание этих клеток в субпопуляции пМо было двукратно, а в субпопуляции нМо – в 4 раза выше, чем в субпопуляции кМо, однако и в этом случае медианный уровень составлял 17%. Относительное содержание Arg1⁺ клеток также было минимальным в субпопуляции кМо (Me 31%) и существенно более высоким – в

субпопуляциях пМо и нМо (70-76%). Аналогичные закономерности были характерны и в отношении экспрессии MerTK, которая выявлялась в половине клеток в субпопуляции кМо, 71% клеток – в субпопуляции пМо и 79% клеток – в субпопуляции нМо. Таким образом, наибольшие различия в количестве CD206⁺, Arg1⁺ и MerTK⁺ клеток выявлялись между кМо и пМо, тогда как пМо и нМо не различались значимо по этим параметрам. Обращает на себя внимание тот факт, что более высокое содержание Arg1⁺ и MerTK⁺ клеток в субпопуляциях пМо и нМо (в сравнении с кМо) сопровождалось также усилением сред-

ТАБЛИЦА 2. ЭКСПРЕССИЯ M2-АССОЦИИРОВАННЫХ МАРКЕРОВ НА МОНОЦИТАХ РАЗЛИЧНЫХ СУБПОПУЛЯЦИЙ У ЖЕНЩИН КОНТРОЛЬНОЙ ГРУППЫ, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 2. EXPRESSION OF M2-ASSOCIATED MARKERS ON MONOCYTES OF VARIOUS SUBPOPULATIONS IN WOMEN IN THE CONTROL GROUP, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

	CD206		Arg1		MerTK	
	%	MFI	%	MFI	%	MFI
кМо, CD14 ⁺⁺ CD16 ⁻ сМо, CD14 ⁺⁺ CD16 ⁻	4,2 (4,1-6,4)	1733 (790-2588)	31 (19-53)	540 (200-610)	49,5 (43-53)	550 (260-640)
пМо, CD14 ⁺⁺ CD16 ⁺ iМо, CD14 ⁺⁺ CD16 ⁺	8,7* (8,4-23,0)	1035* (696-1427)	70** (53-75)	776** (480-900)	71** (63-87)	750* (320-1040)
нМо, CD14 ⁺ CD16 ⁺⁺ nМо, CD14 ⁺ CD16 ⁺⁺	17* (9,6-19,0)	1004 (710-1420)	76** (53-79)	806** (420-830)	79** (56-88)	720** (340-1020)

Примечание. * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ – достоверность различий с кМо по критерию Манна–Уитни. MFI – средняя интенсивность флуоресценции.

Note. *, $p < 0.05$, **, $p < 0.01$, significance of differences with cMo according to the Mann–Whitney test. MFI, the mean fluorescence intensity.

ТАБЛИЦА 3. ЭКСПРЕССИЯ M2-АССОЦИИРОВАННЫХ МАРКЕРОВ МОНОЦИТАМИ РАЗЛИЧНЫХ СУБПОПУЛЯЦИЙ У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 3. EXPRESSION OF M2-ASSOCIATED MARKERS BY MONOCYTES OF VARIOUS SUBPOPULATIONS IN PREGNANT WOMEN, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

	CD206		Arg1		MerTK	
	%	MFI	%	MFI	%	MFI
кМо, CD14 ⁺⁺ CD16 ⁻ сМо, CD14 ⁺⁺ CD16 ⁻	12# (6,6-20,0)	1895 (1306-3451)	30 (23-39)	690## (616-733)	69## (55-83)	842###** (798-912)
пМо, CD14 ⁺⁺ CD16 ⁺ iМо, CD14 ⁺⁺ CD16 ⁺	16# (10-20)	1534* (930-2055)	59** (49-77)	878** # (744-1013)	88##** (74-91)	1350###** (1130-1540)
нМо, CD14 ⁺ CD16 ⁺⁺ nМо, CD14 ⁺ CD16 ⁺⁺	16 (12-30)	1080** (975-1398)	64,5** (48-80)	893** # (817-1125)	81,5** (75-89)	1432###** (1145-1970)

Примечание. * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$ – достоверность различий с кМо; # – $p < 0,05$, ## – $p < 0,01$ – достоверность различий с соответствующим показателем в контрольной группе (небеременные) (критерий Манна–Уитни). MFI – средняя интенсивность флуоресценции.

Note. *, $p < 0.05$, **, $p < 0.01$, significance of differences with cMo; #, $p < 0.05$, ##, $p < 0.01$, significance of differences with the corresponding indicator in the control group (non-pregnant) (Mann–Whitney test). MFI, the mean fluorescence intensity.

ней интенсивности флуоресценции, в то время как интенсивность флуоресценции CD206 в субпопуляциях пМо и нМо была, наоборот, ниже, чем в кМо ($p < 0,05$).

У беременных в популяции кМо 12% клеток экспрессировали CD206, одна треть – Arg1 и две трети моноцитов – MerTK (табл. 3). По сравнению с кМо, в популяциях пМо и нМо доля Arg1⁺ и MerTK⁺ клеток (но не CD206⁺) значительно возрастала (в 2 и 1,3 раза, соответственно). При этом нМо содержали достоверно больше Arg1⁺ клеток, чем пМо ($p < 0,05$). Подобно тому, как было выявлено в контрольной группе небеременных, увеличение экспрессии Arg1 и MerTK сопровождалось также усилением средней интенсивности флуоресценции, в то время как интенсивность флуоресценции CD206, наоборот, снижалась ($p < 0,05$).

При сравнении исследуемых групп содержание моноцитов, экспрессирующих M2-ассоциированные маркеры, у беременных было выше, чем у фертильных женщин контрольной группы. Так, у беременных в популяции кМо наблюдалось более высокое (трехкратно) содержание CD206⁺ и MerTK⁺ моноцитов и увеличение средней интенсивности флуоресценции MerTK. Относительное содержание Arg1⁺ клеток было сопоставимо с показателем контрольной группы, в то же время средняя интенсивность флуоресценции фермента была значимо выше. Аналогичные закономерности выявлялись также в популяции пМо (увеличение относительного содержания CD206⁺ и MerTK⁺ клеток, а также средней интенсивности флуоресценции Arg1). Субпопуляция нМо у беременных характеризовалась более высоким показателем средней интенсивности флуоресценции Arg1 и MerTK.

Обсуждение

Суммируя полученные данные, можно заключить, что у фертильных небеременных женщин субпопуляции промежуточных и неклассических моноцитов характеризуются более высокой экспрессией M2-ассоциированных маркеров (CD206, Arg1, MerTK) по сравнению с кМо. При беременности экспрессия указанных молекул на моноцитах статистически значимо возрастает. В отношении CD206 это проявляется возрастанием доли CD206⁺ клеток в субпопуляциях кМо и пМо, в отношении Arg1 – увеличением средней интенсивности флуоресценции во всех субпопуляциях моноцитов и в отношении MerTK – повышением доли MerTK⁺ клеток в субпопуляциях кМо и пМо и средней интенсивности флуоресценции во всех трех субпопуляциях моноцитов.

При этом наибольшее содержание CD206⁺ и MerTK⁺ клеток у беременных выявляется в субпопуляции пМо, а наиболее высокие показатели средней интенсивности флуоресценции Arg1 и MerTK – в субпопуляциях пМо и нМо.

Успешное вынашивание беременности требует существенной перестройки материнской иммунной системы [1], которой приходится одновременно обеспечивать толерантность к полуаллогенному плоду и защиту от микробных инфекций. Изменения в иммунной системе носят динамический характер [14]. Так, в 1-м триместре преобладает активность провоспалительных Th1-клеток, необходимых для имплантации и раннего развития эмбриона; во 2-м триместре – активность Th2-клеток, способствующих обеспечению толерантности иммунной системы к эмбриону; в конце 3-го триместра снова активируются Th1-клетки, участвующие в инициации родов [7]. Важная роль в динамичной регуляции баланса различных Т-клеточных субпопуляций отводится клеткам врожденного иммунитета, в частности циркулирующим моноцитам и тканевым макрофагам на границе между матерью и плодом. Изменения функциональной активности наиболее ярко проявляются в отношении макрофагов на границе мать-плод [3, 11]. В то же время свойства периферических моноцитов, наиболее доступных для исследования и представляющих поэтому большой интерес в качестве потенциальных биомаркеров иммунной адаптации, остаются малоисследованными. Особенно это касается субпопуляции промежуточных моноцитов, которые, с одной стороны, обладают наиболее высокой антигенпрезентирующей способностью и способны стимулировать пролиферацию Т-клеток [5], а с другой – могут участвовать в ограничении воспалительного ответа, являясь основными продуцентами противовоспалительного цитокина IL-10 [16].

Увеличение доли пМо при беременности в результате созревания кМо расценивается рядом авторов как проявление провоспалительного ответа, поскольку увеличение этой субпопуляции описано при многих воспалительных заболеваниях [5]. Однако недавно было показано, что данная субпопуляция играет иммунорегуляторную роль, обладая способностью усиливать продукцию IL-10 в Treg [12].

Заключение

В настоящем исследовании нами впервые охарактеризована экспрессия M2-ассоциированных молекул в субпопуляциях моноцитов человека,

в том числе у фертильных небеременных и беременных женщин, и показано, что моноциты беременных, которые по данным литературы имеют признаки активации [8], характеризуются во 2-м триместре беременности признаками M2-поляризации. Это подтверждается не только усилением экспрессии M2-ассоциированного маннозного рецептора CD206, но и усилением

экспрессии Arg1 и MerTK, опосредующих иммуносупрессивную активность миелоидных клеток и, в частности, макрофагов M2-фенотипа [2].

Дальнейшие исследования M2-ассоциированных маркеров в субпопуляциях моноцитов в динамике гестации позволят более детально охарактеризовать регуляторную роль циркулирующих миелоидных клеток при беременности.

Список литературы / References

1. Abu-Raya B., Michalski C., Sadarangani M., Lavoie P.M. Maternal immunological adaptation during normal pregnancy. *Front. Immunol.*, 2020, Vol. 11, 575197. doi: 10.3389/fimmu.2020.575197.
2. Arlauckas S.P., Garren S.B., Garris C.S., Kohler R.H., Oh J., Pittet M.J., Weissleder R. Arg1 expression defines immunosuppressive subsets of tumor-associated macrophages. *Theranostics*, 2018, Vol. 8, no. 21, pp. 5842-5854.
3. Brown M.B., von Chamier M., Allam A.B., Reyes L. M1/M2 macrophage polarity in normal and complicated pregnancy. *Front. Immunol.*, 2014, Vol. 5, 606. doi: 10.3389/fimmu.2014.00606.
4. Cai B., Kasikara C., Doran A.C., Ramakrishnan R., Birge R.B., Tabas I. MerTK signaling in macrophages promotes the synthesis of inflammation resolution mediators by suppressing CaMKII activity. *Sci. Signal.*, 2018, Vol. 11, no. 549, eaar3721. doi: 10.1126/scisignal.aar3721.
5. Cormican S., Griffin M.D. Human monocyte subset distinctions and function: insights from gene expression analysis. *Front. Immunol.*, 2020, Vol. 11, 1070. doi: 10.3389/fimmu.2020.01070.
6. Crittenden M.R., Baird J., Friedman D., Savage T., Uhde L., Alice A., Cottam B., Young K., Newell P., Nguyen C., Bambina S., Kramer G., Akporiaye E., Malecka A., Jackson A., Gough M.J. MerTK on tumor macrophages is a therapeutic target to prevent tumor recurrence following radiation therapy. *Oncotarget*, 2016, Vol. 7, pp. 78653-78666.
7. Dutta S., Sengupta P. Defining pregnancy phases with cytokine shift. *J. Pregnancy Reprod.*, 2017, Vol. 1, pp. 1-3.
8. Faas M.M., de Vos P. Maternal monocytes in pregnancy and preeclampsia in humans and in rats. *J. Reprod. Immunol.*, 2017, Vol. 119, pp. 91-97.
9. Fadini G.P., de Kreutzenberg S.V., Boscaro E., Albiero M., Cappellari R., Krankel N., Landmesser U., Toniolo A., Bolego C., Cignarella A., Seeger F., Dimmeler S., Zeiher A., Agostini C., Avogaro A. An unbalanced monocyte polarisation in peripheral blood and bone marrow of patients with type 2 diabetes has an impact on microangiopathy. *Diabetologia*, 2013, Vol. 56, no. 8, pp. 1856-1866.
10. Fukui S., Iwamoto N., Takatani A., Igawa T., Shimizu T., Umeda M., Nishino A., Horai Y., Hirai Y., Koga T., Kawashiri S.Y., Tamai M., Ichinose K., Nakamura H., Origuchi T., Masuyama R., Kosai K., Yanagihara K., Kawakami A. M1 and M2 monocytes in rheumatoid arthritis: a contribution of imbalance of M1/M2 monocytes to osteoclastogenesis. *Front. Immunol.*, 2018, Vol. 8, 1958. doi:10.3389/fimmu.2017.01958.
11. Jiang X., Wang H. Macrophage subsets at the maternal-fetal interface. *Cell. Mol. Immunol.*, 2020, Vol. 17, pp. 889-891.
12. Liu B., Dhanda A., Hirani S., Williams E.L., Sen .N., Martinez Estrada F., Ling D., Thompson I., Casady M., Li Z., Si H., Tucker W., Wei L., Jawad S., Sura A., Dailey J., Hannes S., Chen P., Chien J.L., Gordon S., Lee R.W., Nussenblatt R.B. CD14⁺⁺CD16⁺ monocytes are enriched by glucocorticoid treatment and are functionally attenuated in driving effector T cell responses. *J. Immunol.*, 2015, Vol. 194, no. 11, pp. 5150-5160.
13. Munder M. Arginase: an emerging key player in the mammalian immune system. *Br. J. Pharmacol.*, 2009, Vol. 158, pp. 638-651.
14. Peck A., Mellins E.D. Plasticity of T-cell phenotype and function: The T helper type 17 example. *Immunology*, 2010, Vol. 129, pp. 147-153.
15. Pflitsch C., Feldmann C.N., Richert L., Hagen S., Diemert A., Goletzke J., Hecher K., Jazbutyte V., Renné T., Arck P.C., Altfeld M., Ziegler S. In-depth characterization of monocyte subsets during the course of healthy pregnancy. *J. Reprod. Immunol.*, 2020, Vol. 141, 103151. doi: 10.1016/j.jri.2020.103151.
16. Skrzeczynska-Moncznik J., Bzowska M., Loseke S., Grage-Griebenow E., Zembala M., Pryjma J. Peripheral blood CD14^{high} CD16⁺ monocytes are main producers of IL-10. *Scand. J. Immunol.*, 2008, Vol. 67, no. 2, pp. 152-159.

17. Wong K.L., Tai J.J., Wong W.C., Han H., Sem X., Yeap W.H., Kourilsky P., Wong S.C. Gene expression profiling reveals the defining features of the classical, intermediate, and nonclassical human monocyte subsets. *Blood*, 2011, Vol. 118, no. 5, pp. 16-31.

18. Ziegler-Heitbrock L., Ancuta P., Crowe S., Dalod M., Grau V., Hart D.N., Leenen P.J., Liu Y.J., MacPherson G., Randolph G.J., Scherberich J., Schmitz J., Shortman K., Sozzani S., Strobl H., Zembala M., Austyn J.M., Lutz M.B. Nomenclature of monocytes and dendritic cells in blood. *Blood*, 2010, Vol. 116, pp. 74-80.

Авторы:

Шевела Е.Я. — д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Бухтуева Н.Г. — врач — акушер-гинеколог акушерского observationalного отделения № 1 ГБУЗ НСО «Городская больница № 1», г. Новосибирск, Россия

Тихонова М.А. — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Леплина О.Ю. — д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Пасман Н.М. — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии Института медицины и психологии ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», г. Новосибирск, Россия

Черных Е.Р. — д.м.н., профессор, член-корр. РАН, заведующая лабораторией клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Authors:

Shevela E. Ya., PhD, MD (Mecicine), Leading Research Associate, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Bukhtueva N.G., Obstetrician-Gynecologist, Obstetric Observational Department No. 1, City Hospital No. 1. Novosibirsk, Russian Federation

Tikhonova M.A., PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Lepkina O. Yu., PhD, MD (Mecicine), Leading Research Associate, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Pasman N.M., PhD, MD (Mecicine), Professor, Head, Department of Obstetrics and Gynecology, Institute of Medicine and Psychology, Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russian Federation

Chernykh E.R., PhD, MD (Mecicine), Professor, Corresponding Member, Russian Academy of Sciences, Head, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Поступила 20.05.2022
Принята к печати 22.05.2022

Received 20.05.2022
Accepted 22.05.2022