

ИММУНОСУПРЕССИЯ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ И РИСКИ ПРИ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЯХ

О. И. КИСЕЛЕВ

ФГБУ «НИИ гриппа» Минздравсоцразвития РФ, С.-Петербург

Статья посвящена исследованиям механизмов сочетанной иммуносупрессии у беременных женщин с гриппозной инфекцией для разработки мер управления этими процессами и снижения смертности от этой инфекции. В связи с этим автор в обзоре останавливается на вопросах: каким образом обеспечивается иммунное преимущество плода и развитие толерантности; какие механизмы лежат в основе функциональной иммуносупрессии при беременности; почему инфекции представляют особую опасность для беременных женщин; существует ли код контроля иммунной системы и пользуются ли этим кодом вирусы?

Рассматривается также проблема влияния эндогенных вирусов, внедрившихся в геном человека более 25 млн. лет назад, на большое число рисков развития различных видов патологии человека: от бесплодия — до болезней беременности; от развития злокачественных образований — до системной патологии и аутоиммунных процессов.

Ключевые слова: эндогенные ретровирусы, вирус гриппа, беременность, иммуносупрессия, иммунная система беременных женщин.

После пандемии гонконгского гриппа 1968/69 гг. отношение к гриппу вновь постепенно стало изменяться как к опасной для жизни инфекции [1–4].

Впервые за многие годы заболеваемость гриппом в самом начале пандемии 2009 г. быстро распространялась среди молодых людей, не составили исключение и женщины детородного возраста. Госпитализация беременных женщин во многих странах и регионах России носила массовый характер [1]. Несмотря на относительно невысокий уровень распространения гриппа птиц H5N1, уже в период с 2005 по 2008 г. начали регистрироваться осложненные случаи болезни среди беременных женщин [2].

Тяжелое течение пандемического гриппа H1N1pdm09 у беременных женщин обратило на себя особое внимание. Во многих случаях заболеваемости гриппом у беременных возникла необходимость в оказании помощи в палатах интенсивной терапии. В ущерб от пандемии 2009/11 гг. гибель беременных женщин от гриппа является самым значительным и драматическим событием, сравнимым с описанием таких же явлений в период «испанки» 1918 года [1, 5, 6].

Вместе с тем, выявилось и очевидное отставание в понимании природы многих процессов, сопутствующих беременности [6–8]. В первую очередь это относится к функциональной иммуносупрессии, обеспечивающей контроль за вынашиванием плода без имму-

нологического конфликта. Оказалось, что иммуносупрессивный барьер между полуаллогенным плодом и иммунной системой материнского организма обеспечивается ключевыми протеинами эндогенных ретровирусов [8, 9]. Поэтому иммуносупрессия при гриппе у беременных женщин связана со взаимодействием экзогенных вирусов гриппа и эндогенных ретровирусов плаценты. Фактически, речь идет о взаимодействии эндогенных ретровирусов плаценты и экзогенных инфекционных вирусов, использующих идентичный механизм иммуносупрессии [6, 8, 10].

Перед тем как перейти к обсуждению проблемы пандемического гриппа при беременности следует отметить, что опасность развития тяжелых осложнений связана не только с гриппом. При беременности опасность представляет фактически любая инфекция. Кроме гриппа, не меньшую опасность представляют цитомегаловирусная инфекция, инфекционный мононуклеоз и вирус Эпштейн–Барра, корь, геморрагические лихорадки. Все это связано с тем, что инфекционные вирусы используют такой же механизм иммуносупрессии, как и эндогенные вирусы, в значительной степени обеспечивающие защиту полуаллогенного плода от материнской иммунной системы.

На примере гриппозной инфекции взаимодействие вирусов гриппа и эндогенных ретровирусов проявляется со всей очевидно-

стью, а учитывая массовость этой инфекции число клинических наблюдений несравненно больше, чем при каких-либо других инфекциях.

Особенности гриппа при беременности

В период пандемии гриппа 2009/10 гг. беременные женщины относились к наиболее приоритетным группам риска, так как у беременных заболевание гриппом чаще протекает в тяжелой форме, а выбор средств лечения крайне ограничен. «Синдром беременных женщин при гриппе» следует квалифицировать как развитие инфекционного процесса на фоне острой иммуносупрессии, когда физиологическая иммуносупрессия, связанная с беременностью, является фоном, на который накладывается воздействие вирусов на иммунную систему [1, 6, 8, 10, 11–14]. Более того, молниеносное течение в некоторых случаях гриппа у беременных женщин напоминает по клинической картине и состоянию иммунной системы геморрагическую лихорадку Эбола, характеризующуюся особыми механизмами подавления иммунной системы хозяина [15, 16].

По данным исследований академика РАМН В. В. Малеева грипп у беременных женщин может приводить к следующим осложнениям:

- спонтанный аборт;
- преждевременные роды;
- плацентарная недостаточность;
- РДС (респираторный дистресс-синдром);
- антенатальная гибель плода;
- энцефалопатия новорожденных;
- церебральный паралич и мертворожденность;
- низкий вес при рождении.

По данным Белокриницкой с соавт. [17] частота летальных исходов от гриппа, осложненного пневмонией, у матерей составляла 2,5%, а перинатальные потери – 8,3%. Отмечено также, что родоразрешение в разгар осложненного пандемического гриппа H1N1pdm09 сопряжено с прогрессированием полиорганной недостаточности, повышением риска материнской смертности и высокой перинатальной заболеваемостью. Гриппозная инфекция H1N1pdm09 сопровождалась не только пневмониями, но и высокой частотой развития гестозов, фетоплацентарной недостаточности, холестаза и маловодия. У младенцев от матерей с гриппозными пневмониями чаще развивались внутриутробная пневмония, церебральная ишемия, внутрижелудочковые кровоизлияния, судорожный и вегетовисцеральный синдромы, транзиторная дисфункция миокарда [17]

Следует обратить внимание на высокую частоту развития синдрома полиорганной недостаточности у беременных женщин, инфицированных вирусом H1N1pdm09 [1, 7, 14], характерной для таких особо опасных инфекций, как геморрагическая лихорадка Эбола [15, 16]. Системное поражение органов сильно осложняет течение, например, пневмонии и дыхательной недостаточности и часто является признаком перехода заболевания в терминальную фазу.

По общему мнению специалистов, грипп у беременных женщин чаще вызывает тяжелые осложнения, включая пневмонию [12–14]. Одной из причин тяжелых осложнений гриппа и смертельных исходов среди беременных женщин является физиологическое состояние иммунной системы при беременности. Общая иммуносупрессия при беременности связана с некоторыми гормонами (хорионическим гонадотропином, прогестероном), метаболизмом, синтезом альфа-фетопротеина и другими факторами [9].

Имуносупрессия при беременности проявляется слабой реакцией на туберкулиновый тест, длительным ранозаживлением, снижением бактерицидной активности плазмы крови и многими другими признаками [9, 11]. При беременности отмечена ремиссия аутоиммунных заболеваний, например, ревматоидного артрита. При этом признаки ремиссии появляются уже в первый триместр беременности, что свидетельствует о раннем развитии иммуносупрессивных процессов. Беременность не вызывает существенных изменений в гуморальном иммунитете, что делает его очень важным в защите от инфекций в этот период [7, 11, 18].

Еще одна причина тяжелого течения гриппа и других респираторных инфекций при беременности связана с высокой потребностью в кислороде организма матери и плода. Поглощение кислорода прогрессивно усиливается во втором и третьем триместрах беременности [9]. Растущий плод оказывает давление на диафрагму, что делает дыхательные движения затрудненными, особенно при физической нагрузке и движении. Поэтому любое снижение функций легких сильно отражается на общем состоянии беременных женщин. Более того, при беременности из-за высокой потребности в кислороде повышена чувствительность к гипоксии. В случае развития гипоксии наблюдается высокий уровень продукции деструктивных активных форм кислорода. Свободные радикалы кислорода снижают способность легких и плаценты к транспорту кислорода, а при

развитии гриппа вызывают генерализованную провоспалительную реакцию [19–21]. Активные формы кислорода являются индукторами транскрипционных факторов, регулирующих активность генов, кодирующих провоспалительные цитокины. На этом фоне возможно развитие нарушений микроциркуляции и свертывания крови, что приводит к таким грозным осложнениям, как тромбоз легочной артерии.

Кроме этих, хорошо известных причин иммуносупрессии, более важное значение имеет подавление клеточного иммунного ответа [6, 9, 20, 22]. В простых тестах установлено, что сыворотка беременных женщин на всех этапах беременности подавляет пролиферацию полиморфноядерных лимфоцитов. Это свидетельствует о том, что при беременности вырабатываются факторы контроля клеточного иммунного ответа, направленные на защиту плода от реакции материнской иммунной системы на чужеродные антигены плода, начиная с раннего эмбрионального развития [9, 11].

Влияние гриппозной инфекции на плод

Известно, что при тяжелой гипертоксической форме гриппа наблюдается высокая вирусемия (так называемая вирусная нагрузка), в результате которой происходит инфицирование макрофагов и моноцитов, способствующих диссеминации вирусной инфекции по кровеносному руслу. Естественно, в этих условиях может происходить инфицирование плаценты и проникновение вируса через плацентарный барьер [7]. В ряде источников утверждается, что вирусемия – нечастое явление при гриппе (4,7,13,18), и плацентарная передача вируса при обычном сезонном гриппе также происходит достаточно редко [7, 23]. Вместе с тем, исследования на животных свидетельствуют о том, что инфицирование плода может привести к ряду негативных последствий. Например, установлено, что пренатальная гриппозная инфекция у мышей вызывает значительные гистологические изменения в головном мозгу (6,23). Также известно, что последствием гриппа у беременных женщин могут быть поведенческие изменения в раннем детском возрасте [23]. С гриппозной инфекцией плода связываются такие психические состояния, как аутизм [23]. В более позднем возрасте могут проявиться такие заболевания, как болезнь Паркинсона [6, 23].

Как уже указывалось, неблагоприятные исходы беременности были зарегистрированы во время и после всех предыдущих пандемий гриппа. Во время пандемии гриппа 1918 года регистрировался удивительно высокий уровень

спонтанных аборт и преждевременных родов (до 5,6%) [3–7, 23]. По данным некоторых исследований частота спонтанного аборта существенно возрастает у беременных женщин при развитии у них гриппозной пневмонии (до 50%) [5]. В период азиатской пандемии гриппа 1957 года зарегистрировано увеличение дефектов развития центральной нервной системы среди новорожденных [23]. В этот же период отмечена также высокая частота врожденных пороков развития других органов, спонтанной потери беременности, внутриутробной гибели плода и преждевременных родов [23]. Изучение влияния сезонной гриппозной инфекции на плод были противоречивы. Вместе с тем, статистические исследования связи врожденных дефектов развития с перенесенной гриппозной инфекцией на ранних сроках беременности свидетельствуют о повышенном риске их развития [23]. Статистически значимая ассоциация с гриппом установлена для таких дефектов, как расщелина губы с или без волчьей пасти, а также нервной трубки и врожденных пороков сердца. Очень важным выводом ряда исследований последствий гриппа является снижение риска развития дефектов развития путем использования жаропонижающей терапии и приема фолиевой кислоты до и во время ранней беременности [23].

В последние годы все чаще обсуждаются неврологические осложнения гриппа [25]. Нейротропные свойства вирусов гриппа, проявляющиеся у пандемических вирусов представляют особую опасность при массовом распространении инфекции среди невакцинированных людей [24]. В ряде исследований выявляется возможная связь между перенесенным матерью гриппом и детской лейкемией, шизофренией, болезнью Паркинсона и аутизмом, неврологическими заболеваниями, метаболическими расстройствами [23]. В большинстве исследований утверждается, что на ранних сроках беременности лихорадка для плода является опасным симптомом, так как в этих случаях наблюдается нарушение в развитии нервной трубки [23]. Развитие именно этих дефектов можно предотвратить путем применения жаропонижающих (парацетамола) средств и фолиевой кислоты [23].

Таким образом, гриппозная инфекция опасна как для материнского организма, так и для плода. В научной литературе [3, 4, 13] описаны случаи, когда на третьем триместре гриппозная инфекция приводила к гибели матери, а акушерам удавалось спасти только ребенка [12–14]. Чаше гипертоксический грипп с

пневмонией заканчивается как для матери, так и плода фатальным исходом [23].

Именно поэтому необходимы исследования молекулярных механизмов сочетанной иммуносупрессии у беременных женщин с гриппозной инфекцией для разработки мер управления этими процессами и снижения смертности от этой инфекции [6, 24].

Отдаленные эпидемиологические последствия внутриутробного инфицирования плода вирусом гриппа

Следует также иметь в виду, что массовая заболеваемость гриппом среди беременных женщин в период пандемии представляет определенную опасность для формирования поколения детей, у которых вирус гриппа мог войти, стать толерантным и перестать быть чужеродным, распознаваемым иммунной системой патогеном [6, 18, 20]. Это означает, что при инфицировании плода вирусом вирусные антигены могут перейти в разряд компонентов, не вызывающих активного иммунного ответа. Последствия этого процесса различны, но, в первую очередь, могут привести к тому, что дети, рожденные в этих условиях, в связи с отсутствием иммунного ответа на гриппозную инфекцию становятся хроническими носителями персистирующих вирусов гриппа в условиях активной циркуляции вирусов с близкой антигенной структурой. Учитывая длительный антигенный дрейф вирусов гриппа и цикличность пандемий, можно предположить, что в определенный период жизни хронические носители персистентных вирусов гриппа могут вносить существенный вклад в изменчивость циркулирующих вирусов гриппа. При подтверждении такого феномена впервые можно подойти к обоснованию антропонозной концепции происхождения пандемий гриппа, предложенной много лет назад академиком АМН СССР А. А. Смородинцевым [25]. В таком случае бесспорная зоонозная теория с природным резервуаром вирусов гриппа типа А может быть частично дополнена вероятным вкладом популяции человека в эпидемические и пандемические процессы глобальной циркуляции вирусов гриппа. Примирение двух концепций, как завершение острой дискуссии отечественных вирусологов о происхождении пандемии гриппа, было бы полезным для гармонизации взглядов в этой области и более объективной оценки вклада человеческой популяции в эволюцию вирусов гриппа. Есть ряд других аргументов, повышающих научную ценность такого подхода к пониманию

этой сложной проблемы. Необходимо также подчеркнуть, что в рамках новых представлений возможно объяснение 20-летних циклов крупных эпидемий и пандемий.

Возврату вирусов гриппа в циркуляцию и их устойчивой циркуляции могут способствовать хронические носители вируса или популяция людей, толерантных к вирусу, контактировавшие с данным подтипом вируса в утробе матери.

Поэтому, возвращаясь к гипотезе академика АМН СССР А. А. Смородинцева, можно сделать вывод, что атропонозный вклад в пандемические процессы остается сильно недооцененным [25].

Молниеносное течение гриппа и иммуносупрессия

Под молниеносным течением инфекционного заболевания понимается развитие инфекционного процесса с крайне коротким инкубационным периодом, быстрым в течение 1–2 суток развитием основных симптомов заболевания и появлением признаков тяжелых осложнений уже на 3–5-й день заболевания [6, 26]. Переход в тяжелое состояние с нарушением основных функций организма, проявляющийся признаками системного поражения органов, наблюдается уже на 5–6-й день после появления первых симптомов инфекции [1, 7, 26].

Обзорная статья S. Lapinsky [18] посвящена сравнительному анализу клиники и лечения гриппа у беременных и иммуносупрессивных пациентов. Такое сочетание различных групп больных гриппом позволяет реально оценить общие признаки течения гриппа при беременности и системном, лекарственном подавлении иммунитета у, например, больных с трансплантацией органов [18]. Поэтому беременные женщины отнесены как ряд других групп пациентов к обширным когортам иммунокомпроментированных больных. К пациентам с иммуносупрессией относятся больные после пересадки костного мозга, трансплантации почек и других органов, больные ВИЧ-инфекцией, больные с соответствующими наследственными заболеваниями [18]. Несмотря на близкую клиническую картину иммуносупрессии при различных заболеваниях и беременности, необходима классификация этих состояний. Иммуносупрессию при беременности следует выделить в отдельный клинический феномен в соответствии с условиями ее развития и направленностью на обеспечение толерантности к антигенам плода [9, 10].

Известна высокая чувствительность пациентов, находящихся на иммуносупрессивной терапии после операций по трансплантации органов, к различным инфекциям [18]. В первую очередь это относится к цитомегаловирусной инфекции, известной своей высочайшей иммуносупрессивностью [18] и являющейся серьезной проблемой после операций по трансплантации органов [6, 18]. Иммуносупрессивная активность вируса накладывается на лекарственную иммуносупрессию и приводит к беспрепятственной репликации вируса и быстрой генерализации инфекции. Такой же молниеносный тип течения заболевания характерен для оппортунистических инфекций, например, у ВИЧ-инфицированных больных [6, 18].

В статье Dubag с соавт. [27] иммуносупрессивные состояния включены, наряду с беременностью, в перечень преморбидных состояний, способствующих развитию тяжелых осложнений гриппа. Однако, как будет видно при дальнейшем рассмотрении проблемы, иммуносупрессия у беременных женщин носит специфический характер, направленный, главным образом, на ключевые клеточные элементы иммунной системы [9, 10].

Как уже указывалось, в течение сезонных эпидемических вспышек гриппа и прошедших пандемий среди беременных женщин регистрировалась высокая частота осложненных форм гриппозной инфекции по сравнению с другими категориями пациентов [7, 23, 26]. Это явилось основанием для CDC и ВОЗ отнести беременных женщин к группам риска в периоды распространения гриппа в сезонные периоды и в периоды развития пандемий [26]. Гриппозная инфекция является опасным заболеванием как для матери, так и ребенка [7]. По данным CDC наиболее частым осложнением гриппа для беременности является спонтанный аборт или (II и III триместр) – преждевременные роды [26, 27].

В связи с этим CDC в начале пандемии 2009 года (H1N1) инициировал специальную программу мониторинга случаев пандемического гриппа среди беременных женщин. Уже к 10 мая 2009 года специалистами CDC был проведен детальный анализ 20 случаев гриппозной инфекции среди беременных женщин [26]. В 15 случаях диагноз гриппа был подтвержден лабораторно, а в остальных 5 случаях предположительный диагноз гриппа был поставлен на основе клинических признаков заболевания. Из 20 пациенток 3 были госпитализированы, а одна из них погибла в ПИТ.

Позднее число случаев гриппозной инфекции среди беременных женщин прогрессивно увеличивалось, соответственно выросло и число смертельных исходов [7, 17].

Из данного доклада [7] целесообразно привести весьма показательный пример – случай заболевания гриппом H1N1 с молниеносным течением у беременной женщины 33 лет [26].

Пациентка А, 33 лет на 35 неделе беременности с симптомами миалгии, сухого кашля и невысокой лихорадкой 15 апреля обследовалась у акушера-гинеколога. Общее состояние пациентки оценивалось как удовлетворительное и пациентке не была назначена какая-либо терапия. Пациентка принимала только пренатальный комплекс витаминов несмотря на то, что у нее в анамнезе было заболевание псориазом и легкой астмой. Пациентка не предпринимала никаких путешествий, в том числе в Мексику, и не могла заразиться гриппом вне места проживания. Постановка быстрого теста на грипп была положительной. Уже 19 апреля, то есть через 4 дня больная была обследована в местном отделении экстренной медицинской помощи с признаками прогрессирующей дыхательной недостаточности, высокой лихорадкой и продуктивным кашлем. В результате дальнейшего обследования пациентке был поставлен диагноз тяжелого легочного дистресс-синдрома, с насыщением O_2 около 80% и частотой дыхания 30/мин. На рентгенограмме выявлены двусторонние узелковые инфильтраты. Пациентка нуждалась в вентиляции легких и была помещена в ПИТ на механическую вентиляцию. В этот же день была проведена операция кесарева сечения. Новорожденный ребенок был здоров и отправлен домой. Только с 28 апреля пациентка стала принимать осельтамивир в качестве противовирусной терапии в сочетании с антибиотиками и дыхательной поддержкой. Пациентка умерла 04 мая 2009 года [26].

Из приведенной выписки можно сделать следующие выводы:

1. Через 4 дня после первых относительно слабых симптомов гриппа H1N1 у пациентки развилось тяжелое осложнение в виде дыхательной недостаточности с пневмоническими очагами и переходом в тяжелый острый респираторный синдром. Фактически переход в тяжелый легочный дистресс-синдром произошел в течение суток. Терминальное состояние у пациентки развилось в течение суток. Родоразрешение было осуществлено путем кесарева сечения для спасения жизни ребенка и матери.

2. Крайне позднее начало противовирусной и противовоспалительной терапии (пациентка имела в анамнезе псориаз и легкую астму), вероятнее всего в значительной степени определило исход заболевания. Первые симптомы болезни у пациентки появились 15 апреля, 19 апреля поступление в ПИТ, а только 28 апреля был назначен осельтамивир.

3. Совершенство оказания помощи в палатах интенсивной терапии (возможность длительного поддержания жизненно важных функций при тяжелых поражениях легких) позволило продлить жизнь пациентки до 04 мая.

Столь быстрое развитие заболевания характерно для иммуносупрессивных больных или пациентов с тяжелым преморбидным фоном. В случае с беременными женщинами есть основания в значительной степени отнести быстрое развитие осложнений за счет физиологической иммуносупрессии и отсутствия активной противовирусной защиты, как ответа на инфекцию [18].

В целом, в зарубежных и отечественных клинических обзорах можно детально познакомиться с практикой лечения пандемического гриппа H1N1pdm [1, 6, 7, 13, 16]. Обращает на себя внимание публикация по детальному описанию практики в этот период во Франции [27]. В статье подробно описаны клиника, течение заболевания, роль преморбидного фона в развитии осложнений, практика лечения осложнений гриппа у беременных женщин в ПИТ [27]. Высокий уровень оказания медицинской помощи беременным женщинам при гриппе обеспечил во Франции наиболее низкую смертность по сравнению с США и Австралией [7, 27]. В большинстве случаев авторы [27] отмечают два фактора, играющих ключевую роль в развитии осложнений:

- позднее обращение за медицинской помощью;
- позднее назначение противовирусной терапии.

Опережая изложение, «синдром беременных женщин при гриппе» следует квалифицировать, как развитие инфекционного процесса на фоне длительной, вызванной беременностью, иммуносупрессии, когда действие вирусов на иммунную систему накладывается на физиологическую иммуносупрессию беременных [27]. Еще раз следует напомнить, что молниеносное течение гриппа у беременных женщин в некоторых случаях напоминает по клинической картине и состоянию иммунной системы геморрагическую лихорадку Эбола [15, 16]. Такое неожиданное сравнение будет обосновано ниже.

Природа и механизмы иммуносупрессии при беременности

Механизмы иммуносупрессии у беременных женщин до настоящего времени остаются недостаточно изученными [8–10]. Как уже указывалось, существует общее представление о том, что преимущественно гормональный фон, свойственный беременности, играет наиболее важную роль в иммунном статусе в течение беременности [9]. Среди факторов, вызывающих иммуносупрессию отмечаются прогестерон и общий гормональный фон, β 2-микроглобулин, α -фетопропротеин и другие факторы, характерные для беременности. Наиболее важным фактором является общая иммуносупрессивная активность плазмы и сыворотки крови беременных женщин, наблюдаемая уже с самых ранних сроков беременности [9].

На ранних стадиях беременности взаимодействие между инвазирующими фетальными трофобластами и материнскими децидуальными клетками является критическим. Для этого необходима координация экспрессии родительских антигенов, регулирующих это взаимодействие [9, 28]. Инвазия трофобластов, с одной стороны, должна стимулироваться, а, с другой стороны, жестко контролироваться по глубине проникновения в слизистую оболочку матки. Это требует экспрессии систем (сигналов), обеспечивающих деградацию тканей, факторов подавляющих этот процесс и промотирующих репарацию и ангиогенез.

Кроме этого, плод должен быть защищен от иммунной системы материнского организма соответствующим барьером и иммуносупрессивными сигналами. Децидуальные мононуклеарные клетки секретируют ИФН- γ , ИЛ-4 и ИЛ-10. Ряд факторов секретируется НК-клетками и макрофагами. ИФН- γ является морфогенетическим фактором роста спиральной артерии, ремоделирования и инвазии тканей и, вероятно, контроля Th1-клеточного иммунного ответа плода [28].

Одновременная экспрессия ИЛ-4, вероятно, необходима для подавления Th1-иммунного ответа. ИЛ-10 может также быть необходимым в качестве иммуносупрессора в подавлении активации НК-клеток и цитотоксическим регулятором чрезмерной инвазии трофобластов. Как ИЛ-4, так и ИЛ-10 в совокупности с другими локальными факторами, включая гормоны и ростовые факторы, контролируют дифференцировку макрофагов [28]. Децидуальные макрофаги экспрессируют гены, контролирующие инвазию трофобластов (MMP-9, A2M), ангиогенез в плаценте (IGF-1,

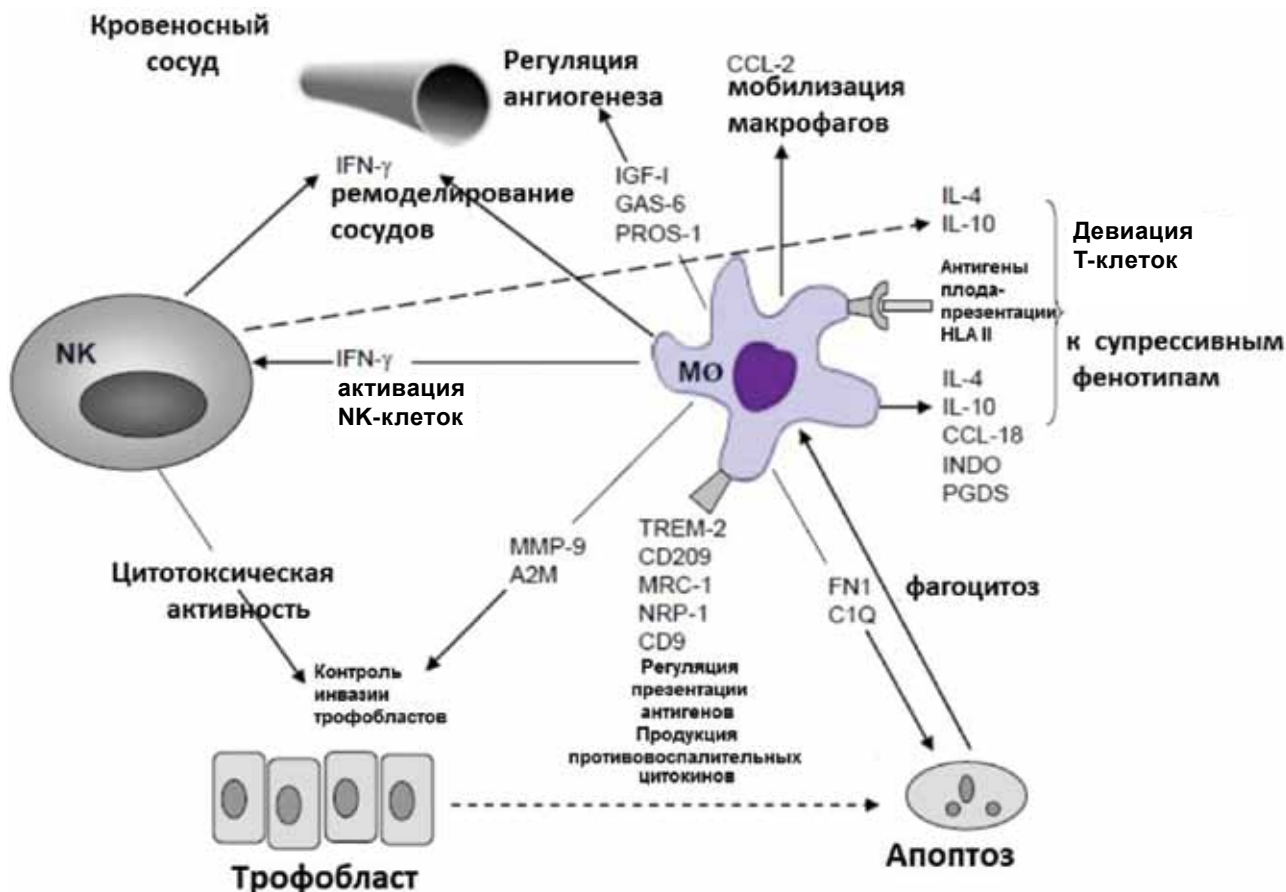


Рис. 1. Схема кооперации клеток иммунной системы и трофобластов в развитии плаценты и контроля иммунной системы в процессе беременности [28]. Основные обозначения на рисунке: NK – клетки, МФ – макрофаги. Кровеносные сосуды, внизу – трофобласты – инвазия трофобластов, апоптотические клетки (инвазия в сочетании с элиминацией клеток – ремоделирование тканей). Остальные обозначения относятся к рецепторам и протеинам (наименования даны в международной номенклатуре), контролирующим 5 основных процессов: ангиогенез, включая рост створчатых спиралевидных артерий, активность NK-клеток, регуляцию инвазии трофобластов. Макрофаги осуществляют контроль инвазии трофобластов и апоптоз клеток – ремоделирование тканей и элиминацию клеток иммунной системы и тканей матки, контроль презентации антигенов плода, супрессию Т-лимфоцитов и контроль толерантности. Основные пояснения даны в тексте

GAS-6, PROS1) и клиренс апоптотических клеток (FN1, C1Q).

Фрагменты фагоцитированных клеток презентуются макрофагальным HLA II, но в силу низкого уровня экспрессии этих компонентов главного комплекса гистосовместимости (HLA) не приводят к активации Т-лимфоцитов, а, наоборот, вызывают супрессию. Макрофаги экспрессируют рецепторы иммунорегуляции – MRC-1, CD9, TREM-2, NRP-1, CD209, которые осуществляют регуляцию активности макрофагов и кооперацию клеток иммунной системы (рис. 1). Макрофаги секретируют протеины CCL18, IDO, PGDS, CCL-2, которые регулируют миграцию лимфоцитов и макрофагов [28].

Децидуальные мононуклеарные клетки активно секретируют IFN- γ , TNF, IL-4, IL-10 и TGF- β . Вероятно, в процессе беременности эти цитокины регулируют иммунный ответ Th1-типа. Предполагается также, что синтез цитокинов необходим на терминальной стадии беременности для обеспечения иммунной защиты рожениц и устранения длительной иммуносупрессии [28].

Изучение цитокинов дает только поверхностную картину состояния иммунной системы, так как не позволяет оценить состояние отдельных субпопуляций лимфоцитов. Поэтому активно развиваются другие подходы, позволяющие более объективно оценить экспрессию генов и состояние Т-клеток. Однако,

большинство этих исследований не связаны с эволюционными представлениями об особой роли иммунной системы при беременности и строении генома человека.

В последние годы расширились исследования экспрессии генома в процессе развития плаценты и беременности [8–10, 28]. Эти исследования в ближайшее время приведут к расшифровке механизмов кооперации эндогенных ретровирусов (ЭРВ) и клеточных генов в развитии и генетическом контроле функций плаценты [6, 8, 10, 19]. Иммуносупрессия с участием ЭРВ носит генерализованный характер, то есть она не локализована только в плаценте. Поэтому понятие иммуносупрессивного барьера плаценты достаточно условно, но при этом очевидно, что основные механизмы иммуносупрессии реализуются именно в плаценте на границе мать/плод [19, 22]. Механизмы генерализации экспрессии иммуносупрессивных генов ЭРВ оказались уникальными и непосредственно связанными с секреторными функциями плацентарных клеток [6].

Однако нельзя не отметить, что изучение генетического контроля морфогенеза плаценты и эволюционной роли эндогенных ретровирусов в эволюции плацентарности и иммуносупрессивной защите плода от реакций иммунной системы матери осуществляется параллельно с основными исследованиями в этой области без прямой связи с физиологией и патологией беременности [6, 8, 22]. Эволюционная связь ЭРВ и инфекционных вирусов неожиданным образом проясняется на уровне механизмов иммуносупрессии [8, 29]. Такой подход оказался наиболее перспективным при изучении проблемы тяжелого течения гриппа у беременных женщин. Следует отметить, что четыре основных достижения современной молекулярной биологии привели к возможности достижения глубокого понимания механизмов иммуносупрессии и механизмов развития осложненной инфекционной патологии при беременности:

- расшифровка функций ключевых генов эндогенных ретровирусов в плаценте;
- расшифровка структуры Т-клеточных рецепторов и механизмов активации Т-клеток;
- идентификация иммуносупрессивных доменов у протеинов ретровирусов и инфекционных с высоким уровнем патогенности;
- открытие экзосомного пути секреции иммуносупрессивных детерминант в плаценте.

Эндогенные ретровирусы, плацента и плацентарные иммуносупрессоры

Совместно с В. И. Покровским [1] на Форуме инфекционистов России в марте 2010 года была впервые представлена новая концепция иммуносупрессии у беременных женщин, на основе которой возможно решение многих вопросов патологии беременности и высокой чувствительности беременных женщин к гриппозной инфекции. Концепция основана на объяснении механизмов генерализации иммуносупрессии, сопутствующей беременности, в связи с экспрессией иммуносупрессивных элементов ЭРВ плаценты и их гомологов у инфекционных вирусов, в данном случае у вирусов гриппа [6, 26]. Иммуносупрессия, вызванная вирусом гриппа, использующим такой же молекулярный механизм, как эндогенные ретровирусы, приводит к настолько сильному дисбалансу в этих процессах, что состояние иммунной системы организма беременной приближается к параличу. Роль ретровирусов в обеспечении иммуносупрессивного барьера плаценты, в первую очередь, подтверждается тем, что плацента относится к единственным органам млекопитающих, в котором наблюдается высокая экспрессия генов ЭРВ и продукция вирусных частиц эндогенных ретровирусов [8, 29]. Более того, в плаценте экспрессируются гомологи протеинов *env* эндогенных ретровирусов, которые в процессе эволюции функционально дифференцированы на выполнение функций слияния и иммуносупрессии [29]. При этом функции генетического контроля морфогенеза плаценты объединены с функциями иммуносупрессии [6, 29]. У большинства других вирусов, например ВИЧ-1, эти функции объединены в один домен слияния [6, 30]. Исключением являются инфекционные вирусы, включая вирус гриппа, обладающие независимыми детерминантами иммуносупрессии в неструктурных протеинах [6, 31, 32].

Концепция иммуносупрессии у беременных женщин основана на понимании механизмов генерализации подавления основных функций клеточного иммунитета, сопутствующего беременности в связи с экспрессией иммуносупрессивных элементов эндогенных ретровирусов плаценты [1, 6]. На рис. 2 представлена экспрессия эндогенных ретровирусов в тканях животных и человека [8, 10].

Как видно из рис. 2, высокий уровень экспрессии эндогенного вируса *HERV* наблюдается

ся только в плаценте. В большинстве других тканей уровень экспрессии (по гену *env*) носит пороговый (базисный) характер, но чаще всего транскрипция ЭРВ отсутствует [6, 8]. В первую очередь высокий уровень экспрессии относится к протеинам *env*.

Структура генома ретровируса *HERV* включает в себя гены *gag*, *pol* и *env* (рис. 2). Все гены необходимы для репликации (*pol*), образования вирусных частиц — капсидации (*gag*) и образования протеиново-липидной оболочки (*env*). LTR — длинные концевые повторы необходимы для интеграции и реинтеграции (рис. 2). Протеин *env* получил название синцитина за его способность к образованию синцития. Суть этого процесса сводится к слиянию моноядерных клеток в крупные трофобластные синцитиальные — многоядерные. При ограничении образования синцитиальных структур происходит нарушение развития плаценты и возникает невозможность имплантации blastоцисты и вынашивания плода [29]. Таким образом, в процессе развития плаценты происходит полноценная экспрессия ретровируса *HERV*, обеспечивающая морфогенез плаценты, что одновременно сопровождается образованием интрацистеральных вирусных частиц (см. рис. 3).

Иммуносупрессивные домены вирусных и плацентарных протеинов: синцитин 1 и синцитин 2

Протеин *env* ретровируса *HERV* обладает фьюзогенными и синцитийобразующими функциями, необходимыми для образования синцитиотрофобластов [8, 10]. По центру трансмембранной части локализуется так называемый иммуносупрессивный домен (ИСД). В большинстве случаев ИСД локализуется в непосредственной близости от пептида слияния (рис. 3). Локализация ИСД, по-видимому, имеет принципиальное значение. Впервые этот домен идентифицирован в виде пептида CSK-17 у эндогенных ретровирусов [10]. Сердцевинный — коровый домен этого протеина отличается высокой гидрофобностью, обогащен остатками лейцина и представлен гексапептидом LDLLFL, который в большинстве случаев фланкирован положительно заряженными аминокислотными остатками [32]. Такая же закономерность выявляется при сравнительном анализе ИСД — последовательностей ретровирусов животных и человека. На рис. 4 приведена первичная структура ИСД ретровирусов в сравнении с пептидом CSK-17.

На рис. 4 видно, что «коровые» последовательности, обогащенные лейцином, практически идентичны у всех представителей иммуносупрессивных доменов [6, 33]. В первую очередь следует отметить, что общая структура ИСД-последовательностей совпадает у инфекционных и эндогенных ретровирусов. Так, после идентификации ИСД у ретровирусов аналогичный домен с такими же функциями был выявлен в протеине GP2 вируса геморрагической лихорадки Эбола [33].

Как уже указывалось, эволюция ЭРВ у плацентарных животных привела к разделению и функциональной дифференцировке двух генов *env*: *env-ERVWE1* и *envFRD*, соответствующих у человека синцитину 1 и синцитину 2 [34–36]. На рис. 5 представлена схема строения и пространственная модель протеина *env* F-MLV ретровируса мышей [34].

Существенным отличием двух доменов является наличие в вирусоспецифической (*env*MLV) последовательности дополнительно положительно заряженного остатка лизина (K), что может быть необходимым для более высокой иммуносупрессивной активности [34]. На рис. 5 выделена последовательность ретровирусного протеина *env*, являющаяся ключевой в проявлении иммуносупрессивных свойств вируса. Однако фланкирующие последовательности с N- и C-концов домена обеспечивают как определенную конформацию основного домена, так и реализацию его активности. Изолированные синтетические пептиды — гомологи ИСД существенно уступают в активности структурам, близким к природной как у вирусных протеинов, так и у синцитина 2 [6, 34–36]. Кроме структурных ограничений на уровне иммуносупрессорных протеинов существуют и ограничения в их транспорте и взаимодействии с клетками иммунной системы. Очевидно, что действие иммуносупрессоров не ограничено плацентарным барьером.

Иммуносупрессивные домены эндогенных ретровирусов: сходство с современными инфекционными вирусами

В исследованиях иммуносупрессоров ретровирусов установлено, что для инфекционных ретровирусов ИСД-домены являются фактором патогенности [33]. Предварительные исследования ИСД у вирусов гриппа привели к такому же выводу: высокопатогенные вирусы гриппа отличаются высоким уровнем иммуносупрессивной активности при сохранении способности к индукции «цитокинового шторма». Более того, у пандемических вирусов гомологи

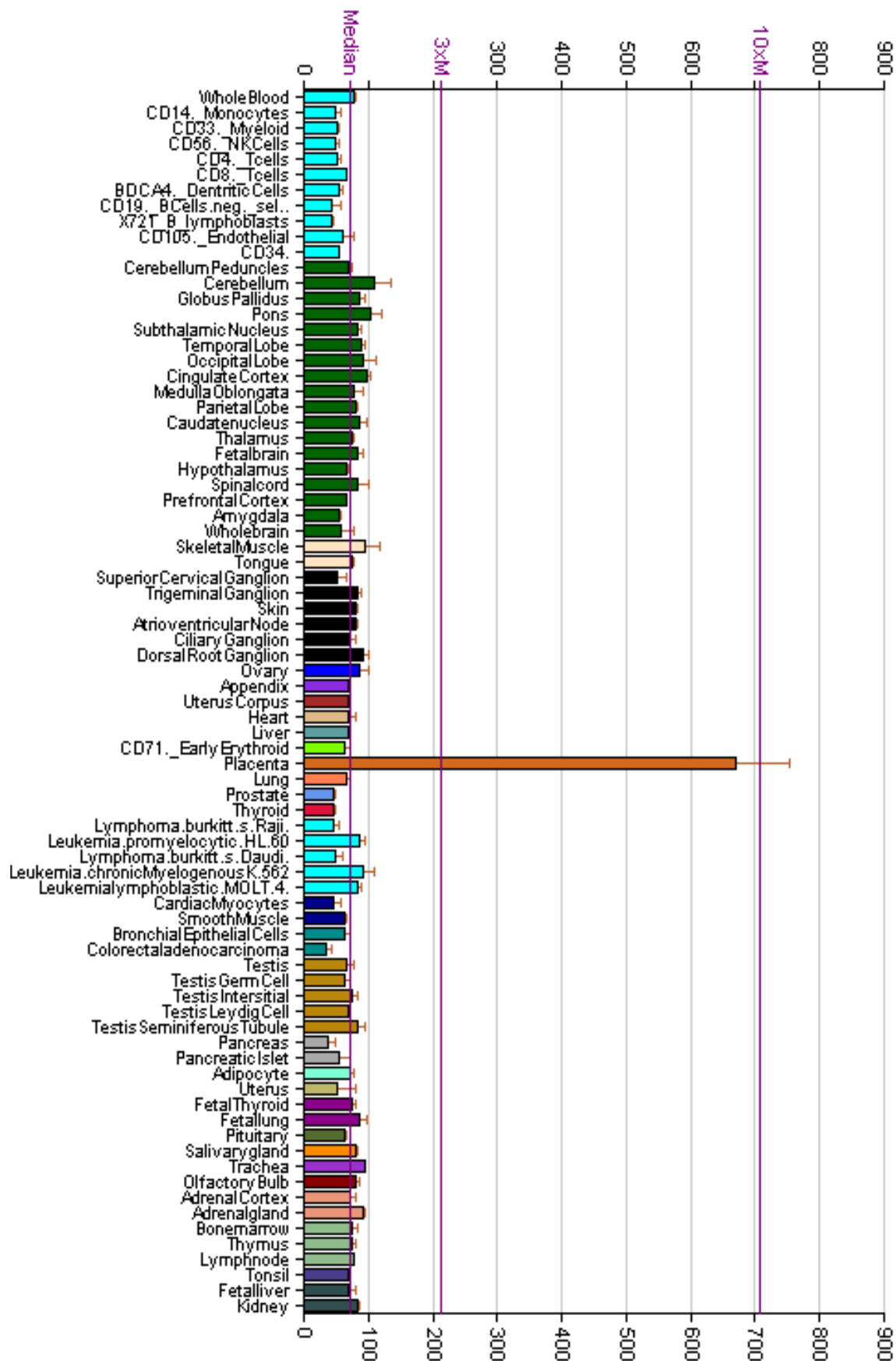


Рис. 2. Экспрессия эндогенного ретровируса HERV в тканях человека [8]

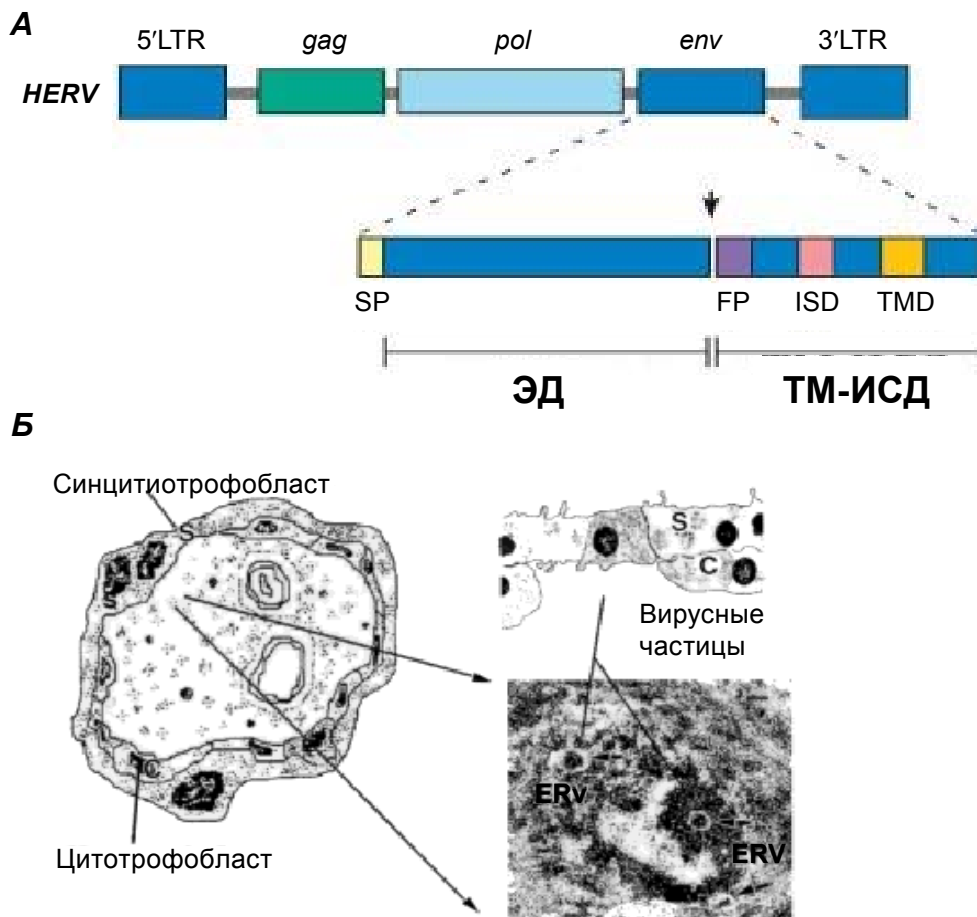


Рис. 3. Генетическая структура (карта) эндогенного ретровируса человека (HERV) с указанием длинных концевых повторов (LTR) и генов, кодирующих протеины gag, pol, env. А — на карте протеина выделены домены поверхностной (ЭД) и трансмембранной (ТМ) частей. В пределах трансмембранной части (ТД) выделены FP — пептид слияния (фьюжин), ISD — иммуносупрессивный домен (ИСД), TDM — трансмембранный домен, ориентирующий протеин env — в мембране. Б — морфогенез синцитиотрофобласта и локализация эндогенных вирусных частиц [8]

ИСД локализованы не только в протеине NS1, но и в протеине NS2 [37].

Сравнительный анализ структуры ИСД доменов у более обширных групп вирусов показал, что подобные домены свойственны многим вирусам животных и человека, а у вируса ВИЧ-1 данный домен локализуется в непосредственной близости от пептида слияния — фактора инвазивности вируса, определяющего способность к эффективному инфицированию Т-лимфоцитов [31]. При этом в работе Сигалова [31, 32] представлены принципиально новые механизмы действия как пептидов слияния, так и ближайших к ним доменов, известных как ИСД. Согласно с данными этой работы [32], как фьюзогенные пептиды, так и пептиды типа ИСД могут проявлять иммуномодулирующие функции. Иммуномодуляция в этом случае может осуществляться путем

трансмембранного взаимодействия с трансмембранными доменами TCR α -рецепторов, являющимися ключевыми факторами активации Т-лимфоцитов [6, 31, 32]. Действительно, фьюжин пептиды ВИЧ-1 gp41 обладают прямым ингибирующим действием на активацию

FeLVp15E	QNRRGLDILFLQEGGL
HTLV-1/2gp21eE	QNRRGLDILFLQEGGL
ERV3 Env	QNRLALDYLLAQEEGV
HERV-W Env	LQNRRALDLLTAERGGGL
• CSK-17	LQNRRGLDLLFLKEGGL

Рис. 4. Первичная структура иммуносупрессивных доменов ретровирусов животных и человека [33]

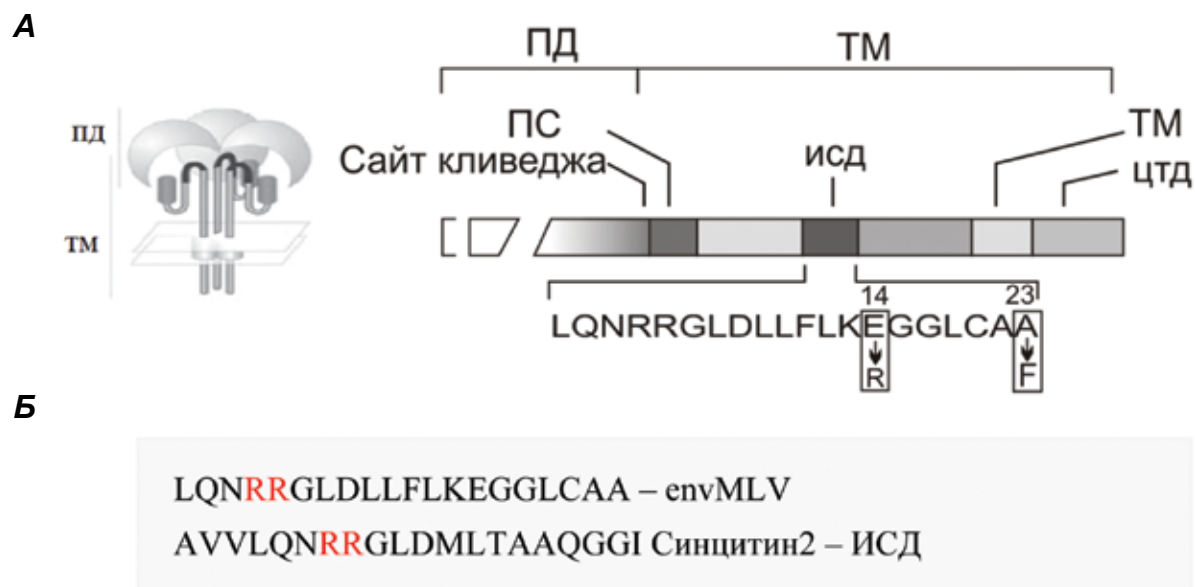


Рис. 5. Структура протеина F-MLV Env и его фьюзогенных и иммуносупрессивных детерминант [34]. А – модель протеина env, сверху в виде трех «лепестков» представлен поверхностный домен, соединенный с доменом ТМ только сульфгидрильными связями. ТМ – домен также представлен в виде тримера. Спирали мономеров изогнуты в последовательности, соединяющей N- и C-концевые гептаповторы. В этом домене локализуется последовательность ИСД, которая несмотря на гидрофобность экспонирована на поверхности молекулы. На рис. 4 также выделены аминокислотные остатки, определяющие функциональную активность домена, обеспечивающие необходимую локальную конформацию. Б – последовательности ИСД вирусного протеина envMLV и синцитина 2

Т-лимфоцитов, эффективно подавляя их функции в условиях действия антигенного стимула [31]. Такое сочетание функций слияния и иммуносупрессии необходимо, по-видимому, всем Т-лимфотропным вирусам для предотвращения активации противовирусной защиты в самом начале инфекции [6,31].

На рис. 6 представлены последовательности ИС-доменов у различных ретровирусов. В продолжение этого перечня на рис. 6 приводится первичная структура ИСД более широкого перечня вирусов, включая такие вирусы, как цитомегаловирус, вирусы геморрагических лихорадок [32, 33]. Последовательности для ВИЧ-1, цитомегаловируса и ряда других особо опасных вирусов представлены с областью пептидов слияния, характерной особенностью которых является обогащенность остатками глицина (G).

Мишенью для потенциальных сайтов ИСД (рис. 6), является область корового пептида трансмембранного сегмента TCR α [32, 33]. Следует еще раз обратить внимание, что у большинства вирусов иммуносупрессорный «коровый» домен фланкирован положительно заряженными аргинином и лизином, что, вероятно, существенно для его связывания с

TCR α и антигенами HLA. Этот уникальный механизм действия вирусоспецифических пептидов обрывает на самом начальном этапе реакцию Т-лимфоцитов на вирусные и другие антигены и блокирует распознавание чужеродных антигенов в организме [6]. Данный механизм действия быстро реализуется в условиях активной репродукции и диссеминации вируса в организме [6, 41].

Иммуносупрессивные домены пандемических вирусов гриппа

Гриппозной инфекции, вызванной штаммами с повышенным уровнем патогенности, характерной, в первую очередь, для пандемических вирусов, свойственно два основных парадокса:

- прогрессирующая в процессе развития заболевания иммуносупрессия на грани иммунопаралича и
- цитокиновый шторм – предельно высокий уровень провоспалительных цитокинов в периферической крови и пораженных тканях [1, 24, 30, 38].

Иммуносупрессия при гриппе является, как правило, следствием лейкопении. Особенно это характерно для заболевания, вызванно-

HIV gp41 FP	AVGIGALFLGFLGAAGSTMGAR SMTLTVQARQL
LASV FP	GTFTWTLSDSEGGKDT PGGYCLTRWMLIEAELKCFGNTAV
LCMV FP	GTFTWTLSDSSGVEN PGGYCLTKWMILAAELKCFGNTAV
MOPV FP	GLFTWTLSDSEGN DMPGGYCLTRSMLIGLDLTKCFGNTAI
TACV FP	AFFSWSLTDPLGNEAPGGYCLE KWMLVASELKCFGNTAI
CKS-17	LQNRRLD LLFLKEGGL
SEBOV	ILNRKAID FLLRWGGT
ZEBOV	ILNRKAID FLLRWGGT
MARV	LINRHAID FLLRWGGT
Fr-MLV	LQNRRLD LLFLKEGGL

TMD- TcR α CP – коровый пептид **GLR⁺ILLLK⁺V**

Рис. 6. Сравнение последовательностей различных вирусов протеинов по доменам, проявляющим иммуносупрессорную активность (ИСД) [32,33]. Сокращения: HIVgp41 FP – вирус иммунодефицита человека – ВИЧ, FP – фьюзогенный пептид, TMD – трансмембранный домен, CSK-17 – синтетический гептадекапептид протеинов оболочки ретровируса кошек (FeLV), LASV FP – вирус Ласса, LCMV FP – вирус лимфоцитарного хориоменингита, MARV – вирус болезни Марбурга, MOPV – вирус Мопеа, SEBOV – вирус Эбола, штамм Судан, ZEBOV – штамм Заир, TACV FP – вирус Такарибе, TMD – трансмембранный домен, TCR α TMD – трансмембранный домен T-клеточного рецептора, TCR α CP «коровый пептид» трансмембранного домена T-клеточного рецептора

го вирусом H5N1 [2, 24]. Механизмы развития лейкопении при гриппе известны и связаны с инфицированием макрофагов и моноцитов и их массовым апоптозом, вызванным действием протеина PB1-F2 [39, 40]. Вместе с тем, лейкопения менее характерна для пандемического гриппа H1N1pdm09 [24], так как открытая рамка считывания PB1-F2 у этого вируса практически полностью deletирована. Поэтому у пандемических вирусов H1N1 1918 года и H1N1pdm09 существенное значение имеют ИС-домены протеинов NS1 и NS2 [37].

При этом, в пределах иммуносупрессивных последовательностей, с одной стороны, высокий консерватизм «коровой» последовательности ИСД, с другой стороны, у штаммов, отличающихся высочайшей патогенностью, можно отметить усиление консенсуса путем включения остатков ароматических аминокислот [24, 37], что сближает эти вирусы с вирусом Эбола [33]. Так, у вирусов «испанки» 1918 года и вирусов H5N1 (A/VN.1203.04) в положении 143 локализуется остаток тирозина, а у менее патогенного вируса H1N1pdm09 – треонина (рис. 7).

Протеин NS1 вирусов гриппа относится к многофункциональным протеинам вирусов гриппа типа А [24]. Поэтому представляет интерес локализация и свойства ИСД по отношению к другим функционально важным до-

менам. ИС-домен протеина NS1 локализуется между SH2- и SH3-доменами и экспонирован на поверхности молекулы [24]. Принципиальное отличие ИСД протеина NS1 от аналогов у ретровирусов состоит в том, что ИС-домен локализован в неструктурном протеине, синтез которого индуцируется в инфицированных клетках на ранней стадии инфекции. В связи с этим данный механизм иммуносупрессии «включается» позднее и зависит от активности репродукции вируса. Таким образом, для пандемических вирусов гриппа иммуносупрессия не сцеплена с факторами трансмиссивности и инвазии. Действие на функции лимфоцитов осуществляется путем распространения фактора иммуносупрессии при активации T-клеток в ответ на вирусную инфекцию. Вероятно, это общее свойство высокопатогенных вирусов, вызывающих острый инфекционный процесс. Этим и объясняется парадокс супериндукции синтеза цитокинов при подавлении ключевых функций иммунитета [1, 24].

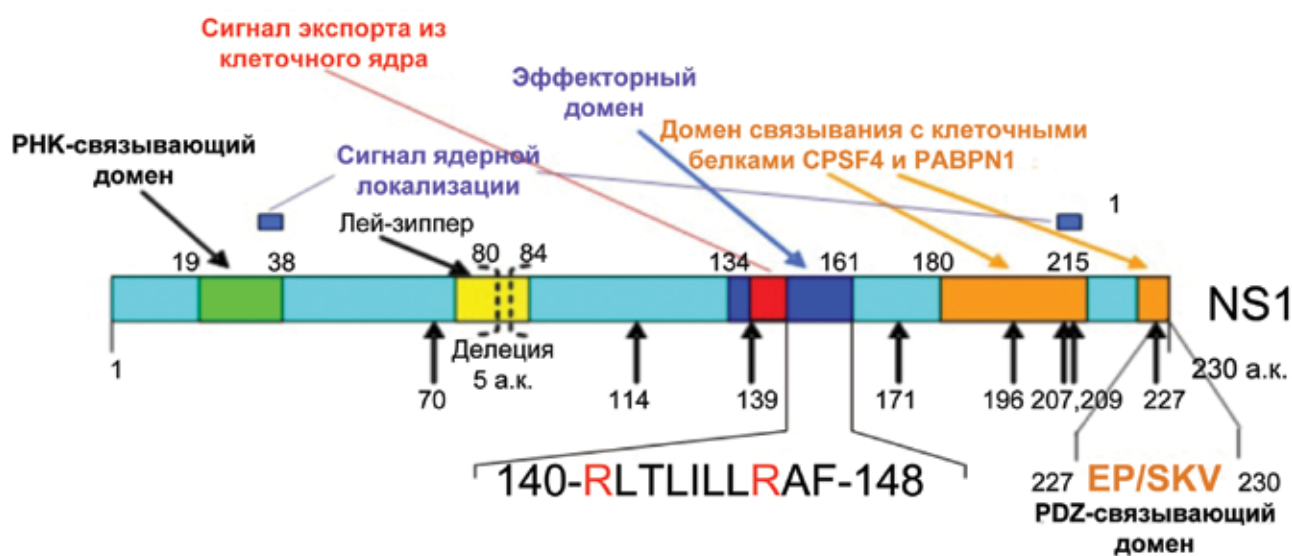
Блок активации TcR – рецепторов доменами ИСД

Основной механизм действия ИСД связан с уникальным процессом, который имеет прямое отношение к иммуносупрессии как при беременности, так и вирусных инфекциях. Эти процессы реализуются на уровне рецепторов

Т-лимфоцитов и NK-клеток, функции которых являются ключевыми в контроле иммунного барьера в плаценте и в обеспечении противовирусной защиты [6, 24].

На рис. 8 представлены схемы строения ТсR-рецептора и его сигнальных компонентов [42]. В области изучения строения ТсR-рецепторов и механизмов самосборки сигнального рецепторного комплекса Т-клеток в последние годы достигнут значительный прогресс. Это связано в значительной степени с расширением методических возможностей изучения взаимодействия протеинов в

клеточных мембранах [42]. Концепция строения и функционирования Т-клеточного сигнального комплекса рассмотрена в ряде обзорных статей, в которых детально описаны строение и механизмы сборки этого сложного надмолекулярного образования, определяющего пути и механизмы распознавания антигенов и активации Т-лимфоцитов [42]. В статье Manolios с соавт. [42] авторы кратко излагают известные механизмы распознавания антигена Т-клеточными рецепторами и в виде гипотезы предлагают концепцию структурно-функциональной организации нового

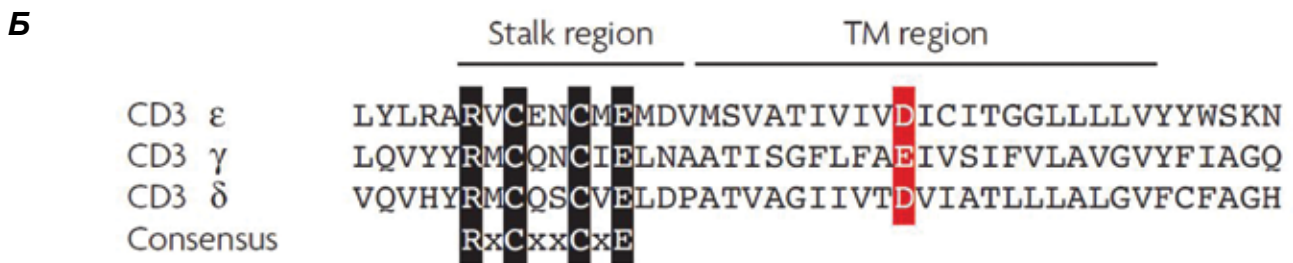
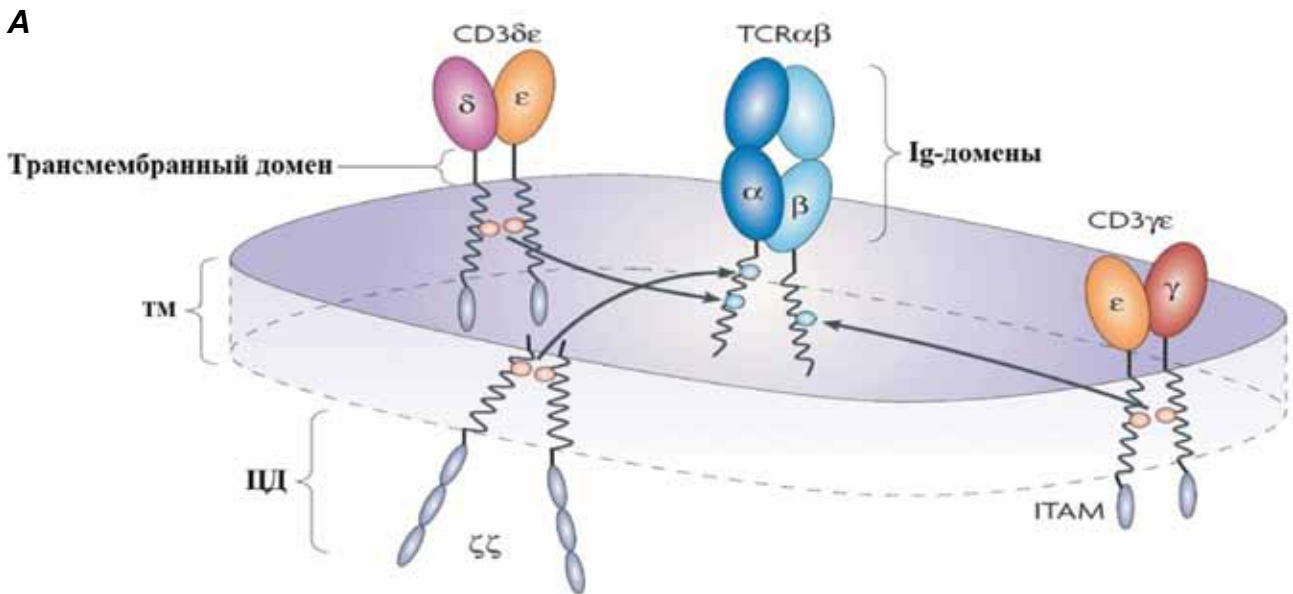


FSVIFNRLET**TLILL**RAFTEEGAI – H1N1 NS1

ILNRKA**IDFLL**QRWGGT – Эбола

A/Teal/97	140-RLEALILLRAFT
A/HK/483/97	140-RLEALILLRAFT
A/VN/1203/04	140-RLEYLILLRAFT
A/H1N1/1918	140-RLEYLILLRAFT
A/Mallard/NY/6750/1978(H2N2)	140-RLETLILLRAFT
A/C.-Петербург./04/09	140-RLETLILLRAFT
FeLV p15E	RRGLDILFLQEGG
CSK-17	LQNRRLDLLFLKEGGL

Рис. 7. Структура иммуносупрессивных доменов эндогенных ретровирусов, вирусов Эбола и гриппа H1N1pdm09. Последовательность пептида CSK-17 – первого идентифицированного ИСД, впервые идентифицированного у эндогенных ретровирусов [33, 37]. На рисунке приведена полная карта протеина NS1 вируса H5N1 с выделением характерных мутаций и основной последовательности ИСД. Ниже приводятся идентичные домены вирусов различного происхождения и отечественного изолята пандемического вируса гриппа А/Санкт-Петербург/07/2009 (H1N1v-2009). Последовательность этого протеина неизменна для всех географических изолятов пандемического вируса гриппа А/H1N1v-2009



В Ретровирусный ИСД домен RRGLD⁻ LLFLK

ИС-домены белка NS1 вируса гриппа:

A/H1N1/C.-Петербург/04/09 RLE⁻ TLILLRAFT

A/H1N1/1918 RLE⁻ YLILLRAFT

Рис. 8. Иллюстрация процессов внутримембранной димеризации TcR-рецепторов и их адапторных молекул [43]. **A** – общая иллюстрация организации и самосборки TcR-рецепторов в комплексе с CD3-корцептором. **Б** – Структура надмембранной и трансмембранной областей компонентов комплекса TcR-рецептора. **В** в пре-мембранной области – в структуре консервативного стебля выделены последовательно аминокислотные остатки аргинина, цистеина, цистеина и глутаминовой кислоты (вертикально – черным цветом). Красным цветом выделены аминокислотные остатки аспарагина (D) глутаминовой (E) кислоты [43]. **В** – последовательности ИС-доменов пандемического вируса 2009 (приведена структура отечественного изолята) и вируса H1N1-1918, вызвавшего «испанку», в сравнении с CP-коровым пептидом. В пептидах выделены аминокислотные остатки, имеющие отрицательный заряд – аспарагиновой кислоты (D) или глутаминовой кислоты (E). Такая структура ИСД обеспечивает взаимодействие этих доменов с «коровым» пептидом TcRα-рецептора [43]

типа сигнального комплекса [42]. Антигенные пептиды инициируют Т-клеточный иммунный ответ путем взаимодействия с Т-клеточными рецепторами. ТсR — рецепторы являются одними из наиболее сложных по строению и механизмам самосборки клеточными рецепторами, состоящими из 6 различных субъединиц. Распознавание антигена осуществляется α - и β -субъединицами собственно ТсR-рецептора, а трансмиссия сигнала осуществляется субъединицами CD3 в виде димеров субъединиц $\delta\epsilon$, $\gamma\epsilon$ и $\zeta\zeta$ [42]. Для передачи сигнала в цитоплазму клеток, а затем в клеточное ядро субъединицы CD — корецепторов должны войти в состав сигнального комплекса рецептора. Эта часть процесса чрезвычайно важна для димеризации α - и β -субъединиц, что более детально будет рассмотрено ниже. После димеризации α - и β -субъединиц ТсR-рецептора и ассоциации с димерами CD3-корецепторов происходит фосфорилирование 10 тирозинсодержащих мотивов (ITAM) в цитоплазматических субъединицах CD3-корецептора, что приводит к активации Т-рецептора.

Механизмы активации Т-клеточных рецепторов в значительной степени прояснились после идентификации так называемых «коровых» пептидов, способных ингибировать активацию Т-рецепторов на стадии взаимодействия ТсR-CD3 компонентов [42]. Ключевым фактором концепции является тримодальная сигнальная система Т-клеток, предложенная авторами [42]. Существо концепции состоит в том, что в отличие от ранее принятого мнения о том, что рецепторный комплекс функционирует как двухкомпонентный- ζ - ζ и CD $\epsilon\gamma$, $\epsilon\delta$, предлагается функционирование трех разных димерных модулей: CD $\gamma\epsilon$, $\delta\epsilon$ ζ_2 [42, 43]. Как будет видно из дальнейшего изложения — это очень важно как для расшифровки механизмов действия иммуносупрессивных доменов клеточных (плацентарных) и вирусных протеинов, так и создания соответствующих средств управления функциями Т-клеточных рецепторов (рис. 8).

TCR $\alpha\beta$ — модуль представляет собой тройной комплекс МНС-пептид (антиген)-TCR-рецептор. Из данных исследования третичной структуры установлено, что TCR $\delta\epsilon$ and TCR $\gamma\epsilon$ модули образуются также в результате формирования надмембранных дисульфидных связей в пределах иммуноглобулиноподобных доменов. Стехиометрический состав комплексов может варьировать в зависимости от дополнительных (вспомогательных компонентов CD3). Цитоплазматические домены δ , ϵ , γ и

ζ -субъединицы в составе комплекса составляют 1–3 копии, несущие тирозинсодержащие мотивы: YxxLx6–8YxxL, которые после стабилизации димера подвергаются фосфорилированию мембрано-ассоциированными киназами [43]. Самый представительный домен комплекса модуль $\zeta\zeta$ образует ассоциированный с мембранами спираль-спиральный комплекс и является ключевым в процессе трансдукции сигнала [43–46].

На рис. 8 представлены структурные модели ТсR $\alpha\beta$ — рецептора и субъединицы CD3 $\delta\epsilon$, $\gamma\epsilon$ и $\zeta\zeta$ в виде нековалентно связанных димеров. Ассоциация каждой из трех типов субъединиц в димер с ТсR-рецептором осуществляется в трансмембранной части ТсR через взаимодействие с положительно заряженными аминокислотными остатками (обозначены голубым цветом) и отрицательно заряженными аминокислотными остатками ТМ — доменов субъединиц CD3 из сигнального модуля. В качестве отрицательно заряженных аминокислотных остатков представлены аспарагиновая или глутаминовая кислоты. ITAM — консенсус-последовательность сайта фосфорилирования тирозин-киназой [43–46].

Следует обратить внимание на высокую гомологию ИС-доменов ретровирусов и вирусов гриппа. Все ИС-домены содержат отрицательно заряженные остатки глутаминовой кислоты, обладают близким уровнем гидрофобности, определяющей способность к интеграции в мембраны, фланкированы положительно заряженными остатками аргинина (R) и лизина (K).

Внутримембранные взаимодействия гомологичных доменов компонентов комплекса ТсR-рецепторов осуществляются на основе гидрофобных взаимодействий, важнейший вклад в которые свойственен остаткам лейцина и изолейцина (преимущественно взаимодействие лейцин-зиппер мотивов). Дополнительный вклад в димеризацию вносят ароматические аминокислотные остатки [43]. Следует также отметить, что в премембранной области CD3 рецепторов локализируются остатки цистеина. Дисульфидные связи между этими остатками цистеинов переводят димер в состояние ковалентно связанного димера. Вероятно, ковалентное связывание и взаимодействие трансмембранных фрагментов по всей длине необходимо для последующего фосфорилирования остатков тирозина в пределах тирозинсодержащего цитоплазматического домена: YxxLx6–8YxxL (см. также рис. 8).

На рис. 9 представлен общий блок моделей, иллюстрирующий отдельные события

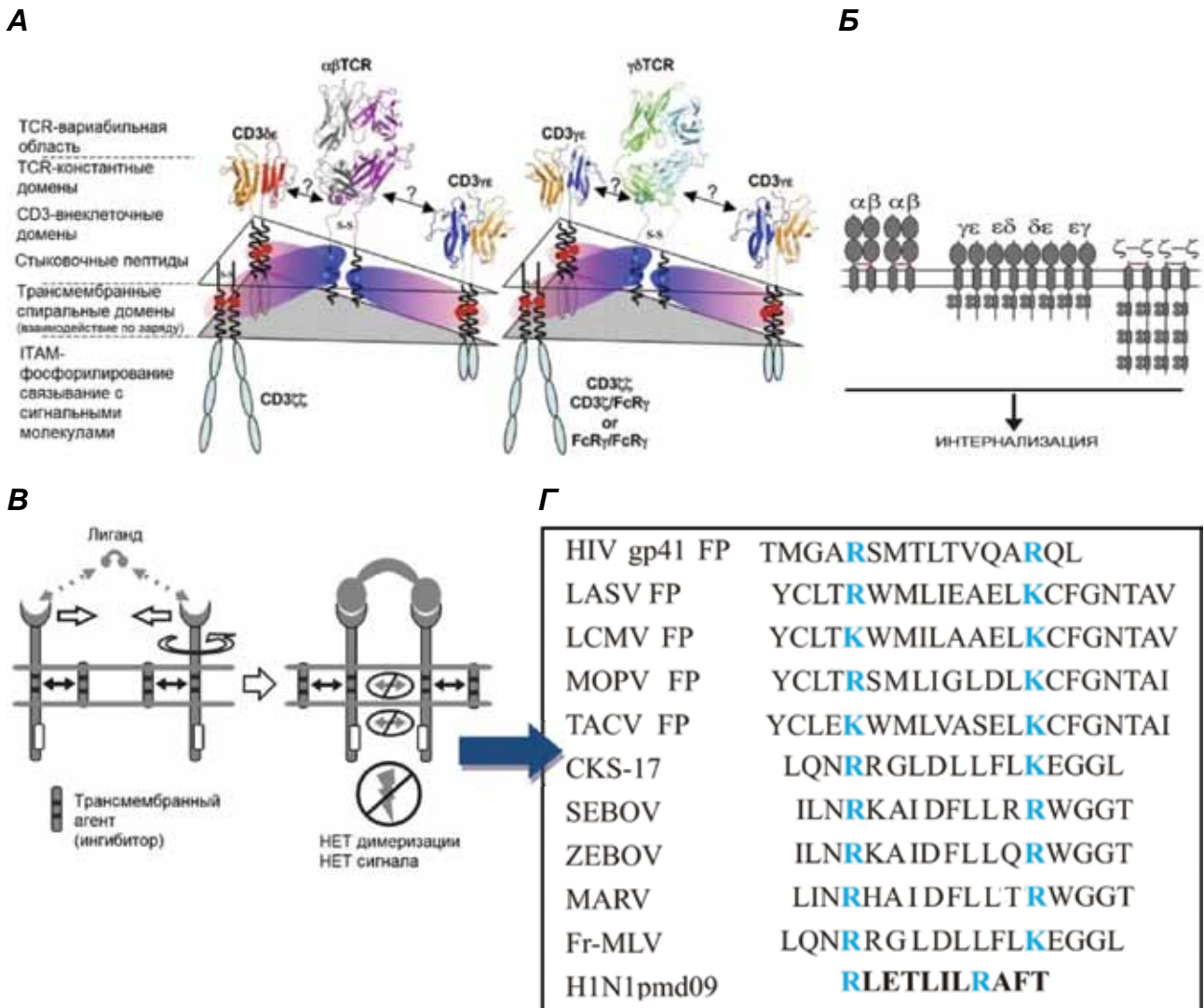


Рис. 9. Панорама иммунорецепторов и их димеров [42, 43]. А – общий вид моделей иммунорецепторов в мембране с указанием основных функциональных доменов. Трехмерными треугольниками обозначены мембраны, в которые интегрированы рецепторы. Б – кластеры CD3 – корецепторов TcR-рецептора. В – действие антигена – лиганда на рецепторы – инициация димеризации, и блок димеризации путем подавления ассоциации трансмембранных доменов. Ингибитор условно обозначен эллипсоидом с перечеркнутой стрелкой. Функции ингибитора выполняют домены ИС вирусных протеинов и синцитинов. Г – первичная структура ИС-доменов различных вирусов – блокаторов димеризации TcR-рецепторов. См. пояснения в тексте

в самосборке иммунорецепторов и действие ИСД вирусов на эти процессы.

На рис. 9 видно, что активация Т-лимфоцитов зависит от образования комплексов TcR-рецепторов и их корецепторов, составляющих структурную основу сигнального ансамбля. Образование кластера рецепторов – необходимое условие быстрой активации Т-клеточного ответа (рис. 9, Б).

ИСД вирусов путем интеграции в мембраны (рис. 9, В) блокируют димеризацию. ИС-

домены различных вирусов в качестве ингибиторов димеризации представлены на рис. 9, Г.

Этот уникальный механизм действия вирусоспецифических пептидов обрывает на самом начальном этапе реакцию Т-лимфоцитов на вирусные и другие антигены и блокирует распознавание чужеродных антигенов в организме. Этот механизм действия быстро реализуется в условиях активной репродукции и диссеминации вируса в организме, являясь ключевым фактором вирулентности. Исследо-

вания действия вирусов гриппа на НК-клетки существенно проясняют выбор вирусоспецифических мишеней среди иммунокомпетентных клеток [47].

Как уже указывалось, действие иммуносупрессивных доменов плацентарных синцитинов направлено на блокаду презентации антигенов плода иммунной системой материнского организма [35]. Для большинства известных вирусоспецифических ИСД установлено, что синтетические иммуносупрессивные пептиды – гомологи ИСД, и соответствующие им протеиновые домены блокируют активацию и пролиферацию Т-лимфоцитов через TCR α -рецепторы [6, 24].

Таким образом, механизмы иммуносупрессии при беременности и вирусных инфекциях идентичны и направлены на один спектр рецепторов [35].

Дополнительный вклад вирусов в функциональную иммуносупрессию при беременности приводит к подавлению неспецифического и специфического иммунного ответа у беременных. На рис. 10 на упрощенной схеме действия вирусов на иммунорецепторы видно, что блокада этих рецепторов включает прямое действие иммуносупрессоров на ТМ-домены путем интеграции в мембраны. В этой схеме добавлен важнейший элемент – экзосомы [32, 49]. Экзосомы – это уникальный структурный элемент клеточных эндосом, обеспечивающий транспорт и межклеточную регуляцию функций организма [47–50]. Экзосомы используются вирусами и плацентой для дистантной регуляции и контроля иммуносупрессии [50–52].

На рис. 10 представлена вирусная частица, субъединица TcR-рецептора и сигнальная субъединица CD3 – корецептора. Стрелкой внутри мембраны обозначено взаимодействие между ТМ-доменами. Интеграция вирусоспецифического иммуносупрессора в мембраны и блокада взаимодействия трансмембранных доменов представлены эллипсоидным элементом со стрелкой. Функцию слияния с клеточной мембраной выполняют экзосомы – носители иммуносупрессивных детерминант протеинов плаценты и вирусов [53].

В связи с пониманием иммуносупрессивной активности, как важнейшего фактора патогенности пандемических вирусов гриппа существенно расширились исследования состояния Т-лимфоцитов при гриппозной инфекции [47]. Так, особое внимание в некоторых работах уделяется функциональной активности НК-клеток на моделях лабораторной

гриппозной инфекции [47]. Известно, что НК-клетки играют критическую роль в элиминации вируса гриппа. В работе Гуо с соавт. [47] установлено, что вирус PR8 обладает способностью инфицировать НК-клетки. В процессе репродуктивной инфекции НК-клеток вирус гриппа значительно снижает функциональную, цитотоксическую активность НК-клеток в отношении опухолевых клеток, что коррелирует с подавлением экспрессии the NCR1, NKG2D, NKp1c, Ly49D и CD244 рецепторов. Более того, эта функция вируса связана с протеином NS1. Обращает на себя внимание действие вирусной репродукции на рецептор NKG2D [47]. Для этого класса рецепторов получены наиболее строгие доказательства прямой зависимости функциональной активности от внутримембранной димеризации с участием полярных аминокислотных остатков в ТМ-доменах (см. рис. 8–9). Также следует отметить, что рецепторы NKG2D являются мишенью для плацентарных иммуносупрессоров [47]. Таким образом, действие вируса гриппа на НК-клетки совпадает с иммуносупрессивной активностью плаценты, также направленной на блокаду их функциональной активности. Совпадение этих механизмов позволяет объяснить высокую чувствительность беременных женщин к гриппу и другим вирусным инфекциям, использующим идентичный механизм иммуносупрессии [47].

Экзосомы и плацента

Как уже указывалось ранее, в течение беременности для обеспечения толерантности мать–плод плацентой продуцируется широкий спектр иммуносупрессивных факторов [49–52]. Оказалось, что для иммуносупрессивного действия плацентой используются экзосомы [49]. Исследования, проводимые на экзосомах изолированных эксплантов плаценты, дают основания предполагать, что иммуносупрессивное действие плацентарных экзосом и способность к индукции апоптоза лимфоцитов свидетельствуют об их гетерогенном составе по иммуносупрессивным и апоптотическим компонентам. В частности, FasL (Fas-лиганд) оказался неосновным компонентом плацентарных экзосом, способных к индукции апоптоза клеток иммунной системы [50, 51].

В связи с этим значительный интерес представляют исследования по выявлению маркеров плацентарных экзосом. Оказалось, что кроме лигандов МНС и FasL они постоянно содержат протеин TSG101 – классический маркер эндосом и постоянный участник внутриклеточного транспорта клеточных и вирус-

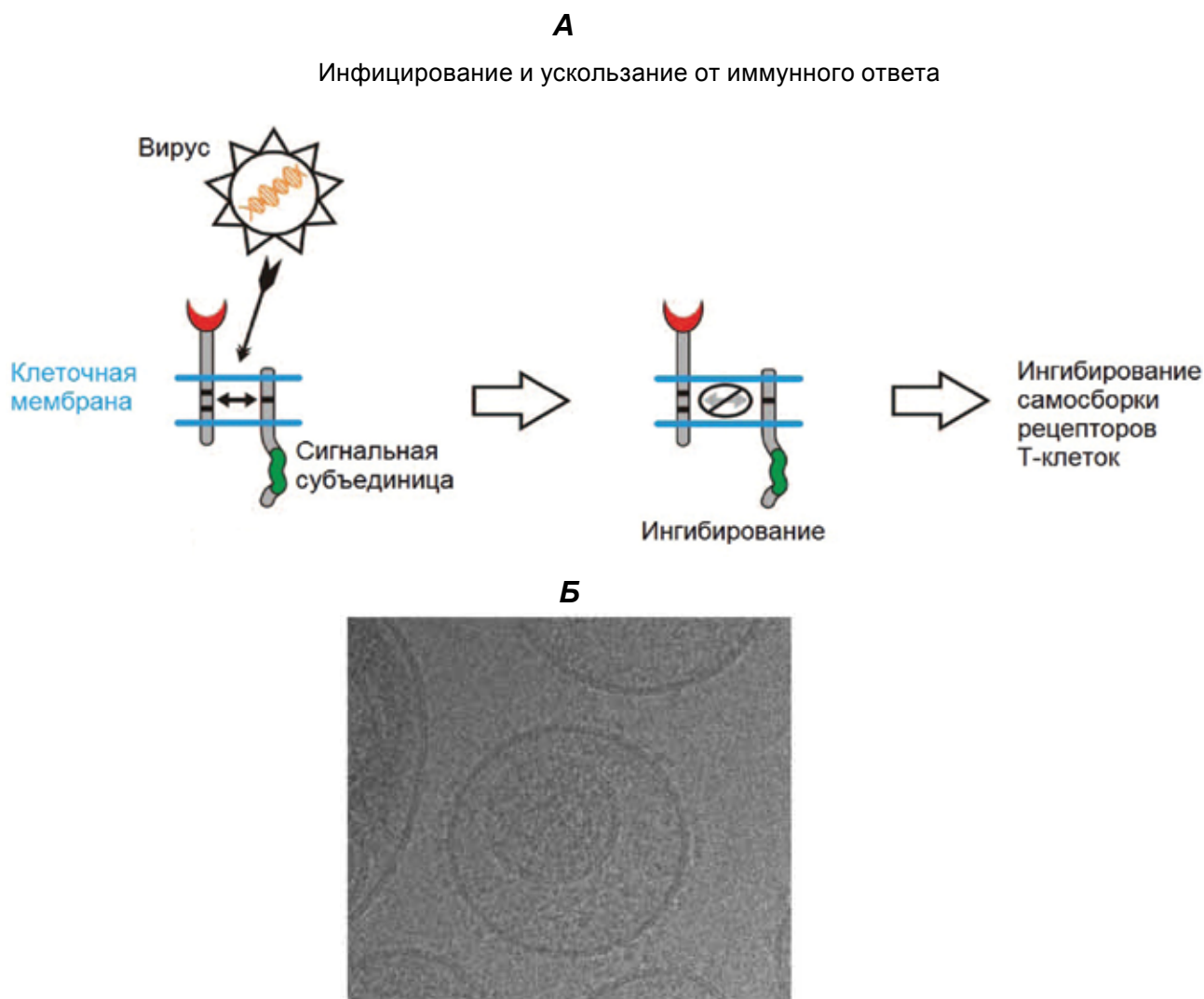


Рис. 10. Модель действия вирусоспецифических ИСД на димеризацию субъединицы Т-рецептора и сигнальной субъединицы – аналога CD3 – корецептора [32, 50–52]. А – действие вирусного ИСД – ингибитора димеризации. Б – электронная микрофотограмма экзосом – транспортных средств плацентарных и вирусных ИСД [50]

ных протеинов [51]. Все экзосомы плаценты содержат этот маркер. Другим маркером плацентарных экзосом является фуриновая протеаза, необходимая для активации тканевых металлопротеиназ, обеспечивающих инвазию хориона в матку. Однако необходимо обратить внимание на зависимость инфекционной активности высокопатогенных вирусов гриппа *H5N1* от фуриновых протеиназ [6, 24, 30]. Распространение экзосом, содержащих фуриновую протеиназу, может существенно отягощать течение «птичьего» гриппа у беременных женщин [2].

Анализ действия плацентарных экзосом на Т-лимфоциты свидетельствует, что их иммуносупрессивное действие направлено на

широкий спектр субпопуляций этих клеток, что подтверждает предположение об использовании различных компонентов репертуара, направленных на блокаду активации иммунорецепторов.

Экзосомы плаценты так же, как экзосомы других органов представляют собой нановезикулы типичной морфологии, образующиеся из эндосомных мультивезикулярных телец МВТ при их слиянии с цитоплазматической мембраной. Особый интерес для понимания механизмов иммуносупрессии при беременности представляют исследования Hedlung с соавт. [51].

В этих исследованиях установлено, что протеины МІС А и В, относящиеся к ком-

плексообразователям цепей МНС I синтезируются в плаценте, которые относятся к лигандам активированных рецепторов NK-клеток NKG2D проходят в синцитиотрофобластах внутриклеточный «сортинг» в системе везикул МВТ и выделяются из клеток путем экзоцитоза с образованием транспортных экзосом [51]. Дальнейшие исследования показали, что UL-16-связывающий протеин, относящийся ко второму семейству лигандов NKG2D, также экспрессируется в плаценте. При этом подчеркивается, что экспрессия этого протеина никак не связана с плацентарной инфекцией ЦМВ. Изучение внутриклеточного распределения этого протеина показало, что он накапливается и задерживается в МТВ. Для исследования секреции двух, выше указанных лигандов использовали культивацию эксплантов тканей плаценты. В результате установлено, что протеины ULBP1-5 и МС-А и В (МНС-лиганды) выделяются из клеток в составе экзосом. Изолированные экзосомы, содержащие эти лиганды активированных рецепторов NKG2D вызвали снижение содержания этих рецепторов на NK-, CD8(+)- и гамма-дельта-T-клетках, что приводило к падению их цитотоксической активности без влияния на перфоринзависимый литический путь. Экзосомозависимый путь секреции лигандов МНС I является альтернативным путем секреции плацентарных лигандов NKG2D в отличие от синтеза растворимой формы (не связанной с мембранами) этих протеинов [51].

Таким образом, одной из мишеней иммуносупрессивных плацентарных экзосом являются рецепторы NK-клеток – NKG2D, что также характерно для гриппозной инфекции [47]. Детально механизмы действия иммуносупрессоров на NK-клетки описаны в отдельных статьях и монографии [6, 51–56].

Эти исследования производят впечатление настоящего прорыва в понимании механизмов коммуникаций при беременности и генерализации процессов иммуносупрессии.

Сделан вывод, что иммунная изоляция и привилегия плода обеспечивается двумя механизмами распространения иммуносупрессии, один из которых осуществляется путем выделения экзосом с иммуносупрессивной активностью в отношении NK-клеток [51]. Результаты этих исследований сразу привлекли внимание и стали предметом обсуждения механизмов защиты плода от потенциальной агрессии со стороны материнской иммунной системы [10, 51].

Наименее изученным аспектом в строении и функциональной активности экзосом является их участие в регуляции сигнальных процессов в клетках. Данные о действии плацентарных экзосом на сигнальные системы клеток свидетельствуют о необходимости в процессе беременности дистантного контроля за сигнальными процессами клеток материнского организма [51].

Однако самым поразительным является участие плацентарных экзосом в контроле экспрессии генов путем использования миРНК [53]. Авторами [184] получена библиотека малых РНК из тотальной РНК плаценты и путем секвенации выявлены миРНК, специфичные для плаценты. К специфичным для плаценты миРНК были отнесены MIR517A, относящиеся к кластеру миРНК в 19-й хромосоме человека. МиРНК секретировались клетками плаценты в форме экзосом и выявлялись в периферической крови. Анализ функциональной активности MIR517A показал, что этот класс миРНК вовлечен в контроль систем передачи внутриклеточных сигналов фактора некроза опухолей [53].

Создается впечатление, что мы находимся только на первом этапе расшифровки кода, определяющего механизмы партитурного набора иммуносупрессоров – молекулярных элементов контроля иммунной системы презентации антигенов и развития толерантности.

ІМУНОСУПРЕСІЯ ПІД ЧАС ВАГІТНОСТІ І РИЗИКИ ЗА ВІРУСНИХ ІНФЕКЦІЙ

О. І. Кисельов

ФГБУ «НДІ грипу» Мінздравсоцрозвитку
РФ, С.-Петербург

Стаття присвячена дослідженням механізмів сполученої імуносупресії у вагітних жінок із гриппозною інфекцією для розробки заходів керування цими процесами і зниження смертності від цієї інфекції. У зв'язку з цим автор в огляді зупиняється на питаннях: яким чином забезпечується імуна перевага плода і розвиток толерантності; які механізми є основою функціональної імуносупресії під час вагітності; чому інфекції становлять особливу небезпеку для вагітних жінок; чи існує код контролю імуноної системи і чи користуються цим кодом віруси?

Розглядається також проблема впливу ендегенних вірусів, вбудованих в геном людини

більше 25 млн. років тому, на значне число ризиків розвитку різних видів патології людини: від безпліддя — до хвороб вагітності; від розвитку злякисних новоутворень — до системної патології та аутоімунних процесів.

Ключові слова: ендегенні ретровіруси, вірус грипу, вагітність, імуносупресія, імунна система вагітних жінок.

IMMUNOSUPPRESSION UNDER PREGNANCY AND RISKS UNDER VIRAL INFECTIONS

O. I. Kiselev

Scientific-Research Institute of Influenza,
Ministry of Health and Social Development,
Russian Federation, St.-Petersburg

The paper is devoted to studying the mechanisms of combined immunosuppression in pregnant women with influenza infection to develop arrangements for controlling these processes and for decreasing mortality from this infection. In this connection the author is dwelling on the following problems:

- How are the fetus immune privilege and tolerance development provided?
- What mechanisms do underlie the functional immunosuppression under pregnancy?
- Why are the infections especially dangerous for pregnant women?
- Is there the code of the immune system control, and do viruses use this code?

The paper deals with the problem of influence of endogenic viruses, which have penetrated the human genome more than 25 million years ago, on the great number of risks of development of various kinds of human pathologies: from infertility to pregnancy diseases; from development of malignant tumors to system pathology and autoimmune diseases.

Key words: endogenic retroviruses, influenza virus, pregnancy, immunosuppression, immune system of pregnant women.

1. Киселев О. И., Ершов Ф. И., Быков А. Т., Покровский В. И. Пандемия гриппа 2009/2010: противовирусная терапия и тактика лечения. — СПб — Москва-Сочи. ООО «А — Принт», 2010.
2. Покровский В. И., Киселев О. И. (Ред.). Грипп птиц: происхождение инфекционных биокатастроф. — Изд. «Росток». СПб., 2005. — С. 380.
3. Simonsen L., Clarke M. J., Schonberger L. B. et al. // *J. Infect. Dis.* — 1998. — **178**. — P. 53–60.
4. McKinney Volkert P., Kaufman J. // *Arch. Intern. Med.* — 1990. — **150**. — P. 213–215.
5. Harris J. W. // *JAMA.* — 1919. — **72**. — P. 978–980.
6. Киселев О. И. Беременность, иммуносупрессия, грипп и плацентарная экспрессия эндогенных ретровирусов. — Изд. «Росток». СПб. 2011, — С. 210.
7. Jamieson D. J., Honein M. A., Rasmussen S. A. et al. // *Lancet.* — 2009. — **374**. — P. 429–430.
8. Rote N. S., Chakrabarti S., Stetzer B. P. // *Placenta.* — 2004. — **8–9**. — P. 673–683.
9. Mor G., Cardenas I. // *Am. J. Reprod. Immunol.* — 2010. — **63**. — P. 425–433.
10. Muir A., Lever A., Moffett A. // *Placenta.* — 2004. — **25**. — P. S16–S25.
11. Noonan F. P., Halliday W. J., Morton H., Clunie G. J. A. // *Nature.* — 1979. — **278**. — P. 649–651.
12. McKinney Volkert P., Kaufman J. // *Arch. Intern. Med.* — 1990. — **150**. — P. 213–215.
13. Hartert T. V., Neuzil K. M., Shintani A. K. et al. // *Am. J. Obstet. Gynecol.* — 2003. — **189**. — P. 1705–1712.
14. Kumar A., Zarychanski R., Pinto R. et al. // *JAMA.* — 2009. — **302**. — P. 1872–1879.
15. Ebihara H., Takada A., Kobasa D. et al. // *PLoS Pathog.* — 2006. — **2(7)**. — P. e73. — DOI: 10.1371.
16. Yaddanapudi K., Palacios G., Towner J. S. et al. // *FASEB J.* — 2006. — **20**. — P. 2519–2530.
17. Белокриницкая Т. Е., Трубицина А. Ю., Мурикова Е. А. Грипп А/Н1N1, осложненный пневмониями, у беременных: течение беременности, исходы для матери и плода. Материалы Всероссийской Научно-Практической конференции «Итоги эпидемии гриппа А/Н1N1». — Челябинск, 2011. — С. 7–9.
18. Lapinsky S. E. // *Crit. Care Med.* — 2010. — **38**. — P. e52–e57.
19. Thellin O., Coumans B., Zorzi W. et al. // *Curr. Opin. Immunol.* — 2000. — **12**. — P. 731–737.
20. Pereira L., Maidji E., McDonagh S., Tabata T. // *Trends Microbiol.* — 2006. — **13**. — P. 164–174.
21. Uchida N., Toyoda H. // *Molecules.* — 2011. — **16**. — P. 2032–2052.
22. Kanellopoulos-Langevin C., Caucheteux S. M., Verbeke P., Ojcius D. M. // *Reprod. Biol. Endocrinol.* — 2003. — **1**. — P. 1–6. <http://www.rbej.com/content/1/1/121>.

23. *Rasmussen S. A., Jamieson D. I., Bresee J. S.* // *Emerg. Infect. Dis.* – 2008. – **14**. – P. 95–100.
24. *Киселев О. И.* Геном пандемического вируса А/Н1N1v-2009.2011. – Изд. Компания «Димитрейд График Групп®». – С. 163.
25. *Сморodinцев А. А.* // *Вопр. вирусол.* – 1975. – № 1. – С. 105–113.
26. *Novel Influenza A (H1N1) Virus Infections in Three Pregnant Women United States, April-May 2009* // *MMWR. Weekly.* – 2009. – **58(18)**. – P. 497–500.
27. *Dubar G., Azria E., Tesniere A. et al.* // *PLoS ONE.* – 2010. – **5**, Iss. 10. – P. e13112.
28. *Gustafsson C.* Local immune regulation in human pregnancy with focus on decidual macrophages. Linköping University Medical Dissertations. No. 1016. ISBN 978-91-85895-85-4. ISSN 0345-0082. Printed by LiU-Tryck, Linköping, Sweden, 2007.
29. *Rote N. S., Chakrabarti S., Stetzer B. P.* // *Placenta.* – 2004. – **8–9**. – P. 673–683.
30. *Киселев О. И.* Химиопрепараты и химиотерапия гриппа. – СПб. Изд. «Росток», 2012. – С. 269.
31. *Sigalov A. B.* // *FASEB J.* – 2007. – **21**. – P. 1633–1634.
32. *Sigalov A. B.* // *PLoS Pathog.* – 2009. – **5(7)**. – P. e1000404. doi:10.1371/journal.ppat.1000404
33. *Blinov V. M.* «Dormant» immunosuppressive domains (ISD) in filoviruses: activation of «Dormant» filoviruses by endogenous retroviruses. <http://www.vector.nsc.ru/conf0999/posters/blinov/blinov.htm>
34. *Schlecht-Loufa G., Renarda M., Mangeneya M. et al.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2010. – **107**. – P. 3782–3787.
35. *Mangeney M., Renard M., Schlecht-Louf G., et al.* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2007. – **104**. – P. 20534–20539.
36. *Vargas A., Moreau J., Landry S. et al.* // *J. Mol. Biol.* – 2009. – **392**. – P. 301–318.
37. *Kiselev O. I., Blinov V. M., Pisareva M., Grudin M.* Genomic structure of highly pathogenic influenza H5N1 virus. Identification of Ebola-like immunosuppressive domain in NS2 protein. Options for the Control of Influenza VI. Proceedings of the International Conference on Options for the Control of Influenza VI held in Toronto, Ontario, Canada / Ed. J. M. Katz. June 17–23, 2007. – P. 252–253.
38. *Cytokine storm* – reference.
39. *Coleman J. R.* // *Virology J.* – 2007. – **4**. – P. 9–12.
40. *McCauley J., Hornung F., Boyd K. et al.* // *Cell Host Microbe.* – 2007. – **2**. – P. 240–249.
41. *Киселев О. И.* Пептиды – комплексоны иммуносупрессивных доменов вирусных и клеточных белков. – Заявка на изобретение. 2012.
42. *Amon M. A., Manolios N.* // *Mol. Immunol.* – 2008. – **45**. – P. 876–880.
43. *Call M. E., Pyrdol J., Wiedmann M., Wucherpfennig K. W.* // *Cell.* – 2002. – **111**. – P. 967–979.
44. *Call M. E., Schnell J. R., Xu Ch. et al.* // *Cell.* – 2006. – **127**. – P. 355–368.
45. *Call M. E., Wucherpfennig K. W.* // *Nat. Rev. Immunol.* – 2007. – **7**. – P. 841–849.
46. *Call M. E., Wucherpfennig K. W., Chou J. J.* // *Nat. Immunol.* – 2010. – **11**. – P. 1023–1029.
47. *Guo H., Kumar P., Moran T. M. et al.* // *Immunol. Cell Biol.* – 2009. – **87**. – P. 579–589; doi:10.1038/icb.2009.60.
48. *Warning J. C., McCracken S. A., Morris J. M.* A balancing act: mechanisms by which the fetus avoids rejection by the maternal immune system. *Reproduction Rev.*, DOI: 10.1530/REP-10-0360. ISSN 1470–1626 (paper) 1741–7899 (online) Online version via www.reproduction-online.org
49. *Taylor D. D., Gercel-Taylor C.* // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2006. – **55**. – P. 401–402. doi: 10.1111/j.1600-0897.2006.00383_26.
50. *Taylor D. D., Akyol S., Cicek Gercel-Taylor C.* // *J. Immunol.* – 2006. – **176**. – P. 1534–1542.
51. *Hedlund M., Stenqvist A. C., Nagaeva O. et al.* // *J. Immunol.* – 2009. – **183(1)**. – P. 340–351.
52. *Chamley L.* F1000 Women's Health. 29 Jul 2009. New Finding.
53. *Luo S.-S., Ishibashi O., Ishikawa G. et al.* // *Biol. Reprod.* – 2009. – **81**. – P. 717–729. DOI 10.1095/biolreprod.108.075481.
54. *Guo H., Kumar P., Malarkannan S.* // *J. Leukocyte Biol.* – 2011. – **89**. – P. 189–194.
55. *NKG2D and its Ligands.* www.rndsystems.com/mini_review
56. *González S., Groh V., Spies T.* // *CTMI.* – 2006. – **298**. – P. 121–138. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2006.