

РОЛЬ АКТИВИН-ПОДОБНОЙ РЕЦЕПТОРНОЙ КИНАЗЫ-5 В ИМПЛАНТАЦИИ БЛАСТОЦИСТЫ И РАЗВИТИИ ПЛАЦЕНТЫ

ROLE OF ACTIVIN-LIKE RECEPTOR KINASE-5 IN BLASTOCYST IMPLANTATION AND PLACENTAL DEVELOPMENT

**A. Ruziguli
N. Rukhliada
Aili Yiminniyazi**

Summary. In this review, the authors systematize data that highlight the importance of signaling of the transforming growth factor- β family of proteins for maintaining reproductive function and endometrial homeostasis; it has been proved that conditional inactivation of activin-like receptor kinase-5 in experimental models inevitably leads to female subfertility due to impaired implantation processes, which leads to the occurrence of placental defects. The article provides scientific evidence in favor of the fact that the absence of *Alk5* in the uterus leads to a significant decrease in reproductive capabilities due to abnormalities observed at different stages of pregnancy, including blastocyst defects, implantation, disorganization of trophoblast cells, fewer natural killer cells of the uterus and impaired remodeling of the spiral artery. The authors of the article raise a very important question in the context of the research topic: the morphology of the preimplantation human embryo is not identical with the analogous process in the mouse embryo, which is most often an experimental model, which significantly complicates the unambiguity of conclusions.

Keywords: proteins of transforming growth factor- β , activin-like receptor kinase-5, blastocyst, implantation, trophoblast, experimental model.

Жуцзыгули Абудувайли

Аспирант, Санкт-петербургский государственный
педиатрический медицинский университет
2568141218@mail.ru

Рухляда Николай Николаевич

Д.м.н., профессор, Санкт-петербургский
государственный педиатрический медицинский
университет
nickolasr@mail.ru

Айли Иминьяцзы

Аспирант, Санкт-петербургский государственный
педиатрический медицинский университет
ailiphd@mail.ru

Аннотация. В данном обзоре авторы систематизируют данные, которые подчеркивают важность передачи сигналов семейства белков трансформирующего фактора роста- β для поддержания репродуктивной функции и эндометриального гомеостаза; доказано, что условная инактивация активин-подобной рецепторной киназы-5 в экспериментальных моделях неизбежно приводит к женской субфертильности из-за нарушения процессов имплантации, что ведёт к возникновению дефектов плаценты. В статье приводятся научные данные в пользу того факта, что отсутствие *Alk5* в матке приводит к значительному снижению репродуктивных возможностей из-за аномалий, наблюдаемых на разных стадиях беременности, включая дефекты бластоцисты, имплантации, дезорганизацию клеток трофобласта, меньшее количество клеток естественных киллеров матки и нарушение ремоделирования спиральной артерии. Авторы статьи поднимают очень важный вопрос в контексте исследуемой тематики: морфология предимплантационного эмбриона человека не идентична с аналогичным процессом у эмбриона мыши, который наиболее часто является экспериментальной моделью, что существенно осложняет однозначность выводов.

Ключевые слова: белки трансформирующего фактора роста- β , активин-подобная рецепторная киназа-5, бластоциста, имплантация, трофобласт, экспериментальная модель.

Актуальность

Активин-подобная рецепторная киназа-5 (далее — *Alk5*) является основным рецептором типа 1 для семейства белков трансформирующего фактора роста β (далее — TGF β). Отсутствие *Alk5* приводит к ранней эмбриональной летальности из-за серьезных дефек-

тов развития сосудов, что делает невозможным успешную имплантацию.

Белки TGF β являются основными регуляторами многочисленных биологических функций. Хотя недавние исследования получили огромное понимание данного семейства факторов роста при репродуктивных процессах

у женщин, функции рецепторов *in vivo* остаются плохо определенными, что и предопределяет проблематику данного теоретического исследования.

Рецептор TGF β 1 типа (TGFB1), также известный как *Alk5*, является основным рецептором 1 типа для лигандов TGF β . В исследовании [14] авторы искусственно блокировали биомолекулярные пути *Alk5* в матке, используя мышей с рецептором прогестерона, чтобы определить физиологическую роль *Alk5* в репродуктивном процессе. Несмотря на нормальные функции яичников и искусственную децидуализацию у мышей с условной инактивацией (сКО), отсутствие *Alk5* в матке приводило к значительному снижению репродуктивных возможностей из-за аномалий, наблюдаемых на разных стадиях беременности, включая дефекты бластоцисты, имплантации, дезорганизацию клеток трофобласта, меньшее количество клеток естественных киллеров матки (uNK) и нарушение ремоделирования спиральной артерии.

TGF- β действует на децидуальные клетки через *Alk5*, вызывая экспрессию других факторов роста и цитокинов, которые являются ключевыми регуляторами пролиферации просвета эпителия, развития трофобласта и созревания uNK во время беременности.

Авторы отмечают снижение инвазивности трофобласта, связанное с повышенным уровнем его апоптотической гибели. Исследователи полагают, что индукция апоптоза трофобласта может осуществляться макрофагами двумя путями: секрецией TNF α и его действием на *Alk5*, экспрессируемые трофобластом, а также созданием дефицита триптофана под действием экспрессируемой макрофагами индоламин-2,3-диоксигеназы [16].

В ещё одном исследовании авторов, посвящённом условной инактивации *Alk5*, было обнаружено развитие эстрогензависимой аденокарциномы эндометрия с отдалёнными метастазами в легких [14].

Однако, осложняет понимание роли *Alk5* в имплантационных процессах тот факт, что морфология предимплантационного эмбриона человека не идентична с аналогичным процессом у эмбриона мыши, которая наиболее часто является экспериментальной моделью в контексте исследования данной темы. После оплодотворения оба эмбриона подвергаются митотическим клеточным делениям, уплотнению и кавитации с образованием бластоцисты, состоящей из слоя трофобласта (TE) и внутренней клеточной массы (ICM). Несмотря на это сходство, существует ряд существенных различий, таких как время деления, расщепления, образования бластоцисты и непосредственно имплантации [18]. Мышиные эмбрионы также подвергаются активации зиготического/эмбрионального генома сразу после опло-

дотворения, однако остается неясным, происходит ли это между 4- и 8-клеточной стадией или ранее, как у эмбрионов человека.

Согласно современным научным данным, три клеточные линии иницируют формирование бластоцисты: плюрипотентные эпибластные (EPI) клетки, которые формируют собственно эмбрион, и внезародышевые TE-клетки и клетки примитивной энтодермы (PE), которые вносят вклад в плаценту и желточный мешок соответственно. Помимо вышесказанного, ещё одна недавняя работа авторов продемонстрировала, что у бластоцист человека и мыши существуют различные генетические программы и сигнальные пути, участвующие в спецификации происхождения, например, дифференциальное требование для передачи сигналов FGF в спецификации происхождения EPI и PE [9, 10].

Анализируя литературу, можно обнаружить, что несколько ключевых компонентов сигнального пути TGF- β высокообогатены и дифференциально экспрессированы в человеческом EPI и TE, и что ингибирование этого пути приводит к подавлению экспрессии NANOG в человеческих, но не в мышинных клетках EPI (!). Ранее предполагалось, что ингибирование передачи сигналов TGF- β увеличивает пролиферацию EPI и усиливает рост клеток во время деривации hESC [20].

Расхождение с предыдущими результатами в научной литературе может быть связано с присутствием мышинных эмбриональных фибробластов, которые, как известно, секретируют факторы, способствующие передаче сигналов TGF- β , во время дериваций hESC (если предположить, что этот путь не был полностью отменен). В целом, вышесказанное говорит о том, что передача сигналов TGF- β и активация *Alk5* необходима для развития плюрипотентного EPI в бластоцистах человека, и дополнительно подтверждает необходимость этого сигнального пути в плюрипотентных hESCs.

В контексте всего вышесказанного, было бы крайне важно определить в будущих исследованиях, может ли стимулирующая передача сигналов TGF- β и активация *Alk5* в отсутствие FGFs во время образования hESC лучше воспроизводить среду передачи сигналов эмбрионов. Таким образом, предыдущие модели исследования на мышах не могут быть переложены на человеческую бластоцисту и процесс имплантации, поэтому дополнительные альтернативные сигнальные пути могут потребоваться для развития человеческого EPI и последующего получения стволовых клеток.

Итак, появляющиеся новые данные свидетельствуют о том, что популяция трофобластных стволовых кле-

Таблица 1. Роль факторов TGFβ в успешной имплантации у человека

Фактор TGFβ	Роль	Клеточная линия/система	Ссылка
TGF 1	↑ способствует вторжению ↑ способствует дифференциации FT CTBs ↓ Запрещает вторжение EVT ↓ Запрещает вторжение	СГЭ-3 HTR8/SVneo Первичные ЭВЦ HTR8/SVneo	Huang Z., Li S., Fan W., Ma Q [7], Cheng J. C., Yi Y., Chang H. M. [3], Lash G. E., Otun H. A., Innes B. A. [11], Graham C. H. [6]
TGFβ2	↓ Запрещает вторжение EVT	Первичные ЭВЦ	Lash G.E., Otun H.A., Innes B.A. [11]
TGFβ3	↓ Запрещает вторжение EVT	Первичные ЭВЦ	Lash G.E., Otun H.A., Innes B.A. [11]
АКТИВИН А	↑ индуцирует FT CTBs → EVTс ↑ способствует вторжению EVT	FT экспланты хориона Первичные FT CTB	Caniggia I., Lye S. J. [2]
NODAL	↓ Тормозит дифференцировку туберкулеза ↑ способствует апоптозу ↓ Ингибирует распространение	Рхо-1, TCK СГЭ-3 HTR8 / SVneo, JEG-3, JAR	Zhao H.J., Klausen C., Zhu H., Chang H.M. [22]
BMP-2	↑ способствует вторжению EVT ↑ способствует формированию трубки	FT плацентарные экспланты FT плацентарные экспланты, HTR8 / SVneo	Zhao H.J., Klausen C., Zhu H., Chang H.M. [22]
BMP4	↑ вызывает вторжение EVT через MSX2	HTR8 / SVneo, JEG-3, JAR	Richter A., Valdimarsdottir L. [17]
ENG	Потеря ENG способствует вторжению	HTR8 / SVneo	Soncin F., Khater M., To C [19]

ток (далее — TSC, согласно международной номенклатуре) существует в ранней человеческой плаценте. Тем не менее, модели культивирования стволовых клеток *in vitro* все еще находятся в разработке, и до сих пор неясно, насколько хорошо они отражают первичные клетки трофобласта (далее — ТБ). Отсутствие надежных протоколов для генерации TSC у людей приводит к ограниченным знаниям молекулярных механизмов, которые регулируют развитие плаценты человека и спецификацию линии ТБ по сравнению с другими эмбриональными стволовыми клетками человека (hESCs). Поскольку, как мы выяснили, имплантация и плацентация у мышей и человека значительно различается, только с развитием моделей на основе человеческих специфик с использованием TSC, можно будет наконец понять патогенез заболеваний, вызванных аномалиями плаценты у людей, например, преэклампсии и окончательное определение роли активации и инактивации *Alk5*.

Именно поэтому, в контексте настоящего теоретического исследования роли, необходимо рассмотреть современный взгляд на роль *Alk5* в развитии и заболевании плаценты человека через её участие в каскаде TGFβ, чтобы сформировать фундамент для дальнейших исследований.

TGFβ активирует SMAD2/3 через рецептор *Alk5* типа I [12]. Сигнальные компоненты TGFβ высоко экспрессируются в нормальной плаценте, но их уровни снижают-

ся с возрастом гестационного периода [21]. Сообщения о роли TGFβ и активации *Alk5* в инвазии трофобласта у человека противоречивы (таблица 1).

Xuan Y. H. и коллеги отметили, что TGFβ1 способствует проникновению в клеточную линию хориокарциномы человека JEG-3 посредством активации SMAD3 (но не SMAD2) и активации MMP2 и MMP9 [7]. Эта активация зависит от каскада TGFβ/SMAD2/3/SNAIL [3]. Неспособность отменить экспрессию TGFβ3 на ранних сроках беременности может привести к снижению инвазии (трофобласта — далее ТБ) и, в свою очередь, к развитию преэклампсии (далее — ПЭ) [1].

С другой стороны, при исследовании эксплантатов плаценты на матриксе все изоформы TGFβ препятствуют инвазии EVT путем инактивации протеаз, важных для инвазии [11]. Подобные наблюдения были зарегистрированы ранее при использовании *Alk5*, которые приводят к блокированию инвазивной активности в клетках HTR8/SVneo. Это происходило через активацию ингибитора активатора плазминогена (PAI-1) и тканевых ингибиторов металлопротеаз (TIMP) [6]. PAI-1 является известной мишенью TGFβ/*Alk5*/SMAD2 и ингибирует активность активатора плазминогена урокиназы (uPA), тогда как известно, что TIMP ингибирует MMPs [5].

Таким образом, большинство сообщений поддерживают идею о том, что TGFβ ингибирует инвазию ТБ на границе плода и матери.

Таким образом, имплантация и плацентация являются видоспецифическими процессами, и это увеличивает сложность их изучения и связанных с ними патологий. Эндометриальная оболочка полости матки представляет собой высокодинамичную ткань, которая находится под постоянным контролем семейства сигналов TGFβ и, в частности, *Alk5*, состоящих из высококонсервативных лигандов, которые аутокринным или паракринным образом передают сигналы через гетеротетрамерный рецепторный комплекс на клеточной поверхности. Как было сказано выше, рецепторный комплекс клеточной поверхности, отвечающий за TGFβ, состоит из рецептора типа 1, TGFBR1/*Alk5*, и рецептора типа 2, TGFBR2. Чтобы определить распределение тканевого компартмента *Alk5* в матке, ряд исследователей оценивали экспрессию *Alk5* в эпителии просвета, а также в стромальном и миометриальном компартментах эндометрия с использованием количественной ПЦР в реальном времени. Эти результаты показали, что *Alk5* был более высоко экспрессирован в эпителии, чем в стромальном и миометриальном компартментах матки. Таким образом, исследования продемонстрировали критическую роль семейства TGFβ в репродуктивной функции [13]. Эти данные подтверждают, что члены сигнального пути семейства TGFβ, в частности, *Alk5*, контролируют различные роли в репродуктивной функции, такие как половая дифференциация во время эмбрионального развития и в репродуктивной оси, где лиганды семейства TGFβ

имеют первостепенное значение для функции оси гипоталамус-гипофиз-половые клетки [8].

Заключение

В женском репродуктивном тракте TGFβ, *Alk5* и его нижестоящие сигнальные факторы, SMAD2 и SMAD3, имеют решающее значение для структурной целостности миометрия и яйцеводов. Фактически, условная абляция TGFBR1/*Alk5* в мышцах матки и стромальных компартментах матки с рецептором *Amhr2-cre* приводит к аномальному развитию гладких мышц, что приводит к дивертикулам яйцеводов и нарушению транспорта эмбрионов. Альтернативно, удаление TGFBR1/*Alk5* из маточной мышцы, стромы и эпителия с помощью рецептора прогестерона приводит к дефектам эндометрия и плаценты, что приводит к аномальному развитию эмбриона и бесплодию [15]. Кроме того, недавно было показано, что условная делеция TGFBR1/*Alk5* и PTEN с использованием *Pgr-cre* приводит к развитию опухоли эндометрия с метастазами в легких [4].

В этом исследовании мы систематизировали данные, которые подчеркивают важность передачи сигналов TGFβ для эндометриального гомеостаза; условная инактивация *Alk5* неизбежно приводит к женской субфертильности из-за нарушения процессов имплантации, децидуализации и возникновения дефектов плаценты.

ЛИТЕРАТУРА

1. Caniggia I., Grisaru-Gravnosky S., Kuliszewsky M., Post M., Lye S. J. Inhibition of TGF-beta 3 restores the invasive capability of extravillous trophoblasts in preeclamptic pregnancies. *J. Clin. Invest.* 1999;103:1641–1650. doi: 10.1172/JCI6380.
2. Caniggia I., Lye S. J., Cross J. C. Activin is a local regulator of human cytotrophoblast cell differentiation. *Endocrinology.* 1997;138:3976–3986. doi: 10.1210/endo.138.9.5403.
3. Cheng J. C., Yi Y., Chang H. M., Leung P. C. K. TGF-beta1 up-regulates cadherin-11 expression through snail: A potential mechanism for human trophoblast cell differentiation. *Cell Signal.* 2018;43:55–61. doi: 10.1016/j.cellsig.2017.12.004.
4. Gao Y, Lin P, Lydon J. P., Li Q. (2017) Conditional abrogation of transforming growth factor-β receptor 1 in PTEN-inactivated endometrium promotes endometrial cancer progression in mice. *J Pathol* 243:89–99.
5. Goumans M. J., Valdimarsdottir G., Itoh S., Rosendahl A., Sideras P., ten Dijke P. Balancing the activation state of the endothelium via two distinct TGF-beta type I receptors. *EMBO J.* 2002;21:1743–1753. doi: 10.1093/emboj/21.7.1743.
6. Graham C. H. Effect of transforming growth factor-beta on the plasminogen activator system in cultured first trimester human cytotrophoblasts. *Placenta.* 1997;18:137–143. doi: 10.1016/S0143-4004(97)90085-0.
7. Huang Z., Li S., Fan W., Ma Q. Transforming growth factor beta1 promotes invasion of human JEG-3 trophoblast cells via TGF-beta/Smad3 signaling pathway. *Oncotarget.* 2017;8:33560–33570. doi: 10.18632/oncotarget.16826.
8. Jamin SP, Arango NA, Mishina Y, Hanks MC, Behringer RR (2002) Requirement of *Bmpr1a* for Müllerian duct regression during male sexual development. *Nat Genet* 32:408–410.
9. Kuijk E. W., van Tol L. T. A., Van de Velde H., Wubbolts R., Welling M., Geijsen N. and Roelen B. A. J. (2012). The roles of FGF and MAP kinase signaling in the segregation of the epiblast and hypoblast cell lineages in bovine and human embryos. *Development* 139, 871–882. doi: 10.1242/dev.071688.
10. Kunath T., Yamanaka Y., Detmar J., MacPhee D., Caniggia I., Rossant J. and Jurisicova A. (2014). Developmental differences in the expression of FGF receptors between human and mouse embryos. *Placenta* 35, 1079–1088. doi: 10.1016/j.placenta.2014.09.008.
11. Lash G. E., Otun H. A., Innes B. A., Bulmer J. N., Searle R. F., Robson S. C. Inhibition of trophoblast cell invasion by TGFβ1, 2, and 3 is associated with a decrease in active proteases. *Biol. Reprod.* 2005;73:374–381. doi: 10.1095/biolreprod.105.040337.
12. Massague J. TGF-beta signalling in context. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2012;13:616–630. doi: 10.1038/nrm3434.

13. Monsivais D, Matzuk MM, Pangas SA (2017) The TGF- β family in the reproductive tract. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 9: a022251.
14. Monsivais, D., Peng, J., Kang, Y., & Matzuk, M. M. (2019). Activin-like kinase 5 (Alk5) inactivation in the mouse uterus results in metastatic endometrial carcinoma. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116(9), 3883–3892. <https://doi.org/10.1073/pnas.1806838116>.
15. Peng J, et al. (2015) Uterine activin receptor-like kinase 5 is crucial for blastocyst implantation and placental development. *Proc Natl Acad Sci USA* 112: E5098-E50107.
16. Reister, F. Macrophage-induced apoptosis limits endovascular trophoblast invasion in the uterine wall of preeclamptic women / F. Reister, H.-G. Frank, J.C.P. Kingdom [et al.] // *Lab. Invest.* — 2001. — Vol. 81, N8. — P. 1143–1152.
17. Richter A, Valdimarsdottir L, Hrafnkelsdottir H. E., Runarsson J. F., Omarsdottir A. R., Ward-van Oostwaard D., Mummery C., Valdimarsdottir G. BMP4 promotes EMT and mesodermal commitment in human embryonic stem cells via SLUG and MSX2. *Stem Cells*. 2014;32:636–648. doi: 10.1002/stem.1592.
18. Rossant J. (2015). Mouse and human blastocyst-derived stem cells: vive les differences. *Development* 142, 9–12. 10.1242/dev.115451.
19. Soncin F., Khater M., To C., Pizzo D., Farah O., Wakeland A., Arul Nambi Rajan K., Nelson K. K., Chang C. W., Moretto-Zita M., et al. Comparative analysis of mouse and human placentae across gestation reveals species-specific regulators of placental development. *Development*. 2018;145 doi: 10.1242/dev.156273.
20. Van der Jeught M., Heindryckx B., O'Leary T., Duggal G., Ghimire S., Lierman S., Van Roy N., Chuva de Sousa Lopes S. M., Deroo T., Deforce D. et al. (2014). Treatment of human embryos with the TGFbeta inhibitor SB431542 increases epiblast proliferation and permits successful human embryonic stem cell derivation. *Hum. Reprod.* 29, 41–48. 10.1093/humrep/det400.
21. Xuan Y.H., Choi Y. L., Shin Y. K., Ahn G. H., Kim K. H., Kim W. J., Lee H. C., Kim S. H. Expression of TGF-beta signaling proteins in normal placenta and gestational trophoblastic disease. *Histol. Histopathol.* 2007;22:227–234. doi: 10.14670/HH-22.227.
22. Zhao H.J., Klausen C., Zhu H., Chang H. M., Li Y., Leung P. C.K. Bone morphogenetic protein 2 promotes human trophoblast cell invasion and endothelial-like tube formation through ID1-mediated upregulation of IGF binding protein-3. *FASEB J.* 2020;34:3151–3164. doi: 10.1096/fj.201902168RR.

© Жуцзыгули Абудувайли (2568141218@mail.ru),

Рухляда Николай Николаевич (nickolasr@mail.ru), Айли Иминьянцзы (ailiphd@mail.ru).

Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»



Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет