



DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-2-0-9

УДК 576.54

# Перспективы регуляции взаимодействия НК-клеток и клеток трофобласта с помощью ингибиторов ЦИКЛИНЗАВИСИМЫХ КИНАЗ

П.В. Гребенкина , Е.В. Тыщук , О.Б. Марко , Е.А. Денисова ,  
М.А. Перевязкина , В.А. Михайлова , И.Ю. Коган , Д.И. Соколов 

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта»,  
Менделеевская линия, д. 3, г. Санкт-Петербург, 199034, Российская Федерация  
*Автор для переписки: Е.А. Денисова (liza.denisova9898@yandex.ru)*

## Резюме

**Актуальность:** Анализ взаимосвязи между натуральными киллерами и клетками трофобласта имеет первостепенное значение для понимания процессов репродуктивной иммунологии. Это исследование создает базу для формирования инновационных методов терапевтического воздействия. В данной работе исследуется влияние ингибирования киназ CDK8/19 на функции НК-клеток и их взаимодействия. Данные киназы способствуют развитию и индукции функциональных характеристик клеток иммунной системы. В настоящее время ведутся активные исследования, направленные на разработку стратегий применения ингибиторов киназ в терапии различных заболеваний. Тем не менее, вопрос их использования для модуляции взаимодействий между иммунными клетками в системе мать-плод остается слабо изученным направлением. Это делает актуальным проведение исследований. **Цель исследования:** Исследование потенциальных эффектов, которые оказывают ИЦК на взаимодействие между НК-клетками и клетками трофобласта в условиях, моделирующих микроокружение при беременности. **Материалы и методы:** В исследовании использовали клеточные линии НК-92 и JEG-3, культивируемые с цитокинами TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , TGF $\beta$ 1, IL-15, IL-18 и IL-10 в концентрациях, соответствующих их содержанию в биологических жидкостях человека. Экспрессию молекул стресса MICA и активирующих рецепторов NKG2D на НК-клетках оценивали методом проточной цитофлуориметрии после совместного культивирования с клетками трофобласта в присутствии/отсутствии ингибиторов цитокинов, а содержание цитокинов в супернатантах определяли иммуноцитохимическим методом. **Результаты:** в ходе данного исследования было показано, что ингибитор циклинзависимых киназ (ИЦК) модулирует экспрессию ключевых молекул, таких как активационный рецептор NKG2D и стрессовая молекула MICA, а также влияет на секрецию цитокинов, включая IL-10 и RANTES. Выявлено, что при взаимодействии с клетками трофобласта происходит усиление цитотоксической активности НК-клеток, несмотря на действие ИЦК, что указывает на сохранение ключевых механизмов распознавания мишени и подтверждает важную роль трофобласта в регуляции активности НК-клеток. Кроме того, выявлено дифференцированное влияние провоспалительных цитокинов (IL-18, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ ) на продукцию IL-10 при

предварительной обработке НК-клеток ИЦК, что может свидетельствовать о возможном перекресте внутриклеточных сигнальных путей. **Заключение:** Полученные данные демонстрируют сложную регуляцию взаимодействия НК-клеток и трофобласта и подчеркивают важность дальнейшего изучения возможностей использования ингибиторов CDK8/19 для модуляции иммунного ответа, включая применение в репродуктивной медицине. **Ключевые слова:** НК-клетки; трофобласт; цитокины; иммунная регуляция; репродуктивная иммунология

**Для цитирования:** Гребенкина ПВ, Тыщук ЕВ, Марко ОБ, и др. Перспективы регуляции взаимодействия НК-клеток и клеток трофобласта с помощью ингибиторов циклинзависимых киназ. Научные результаты биомедицинских исследований. 2026;12(2):316-333. DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-2-0-9

## The prospects of regulating the interaction between NK cells and trophoblast cells through cyclin-dependent kinase inhibitors

Polina V. Grebenkina , Elizaveta V. Tyshchuk , Oksana B. Marko ,  
Elizaveta A. Denisova , Marina A. Perevyazkina ,  
Valentina A. Mikhailova , Igor Y. Kogan , Dmitry I. Sokolov 

D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology,  
3 Mendeleev Line, St. Petersburg, 199034, Russia

*Corresponding author: Elizaveta A. Denisova (liza.denisova9898@yandex.ru)*

### Abstract

**Background:** Background: Analyzing the interaction between natural killer (NK) cells and trophoblast cells is crucial for understanding reproductive immunology processes and developing innovative therapeutic approaches. This study investigates the effects of CDK8/19 kinase inhibition on NK-cell functions and their interactions with trophoblasts, as these kinases regulate immune cell characteristics. Despite active research into kinase inhibitors for disease therapy, their use in modulating maternal-fetal immune interactions remains poorly explored, highlighting the relevance of this work. **The aim of the study:** The aim of the study was to examine the potential effects of cyclin-dependent kinase inhibitors (CDKIs) on the interaction between NK cells and trophoblasts under conditions mimicking the pregnancy microenvironment. **Materials and methods:** The study utilized NK-92 and JEG-3 cell lines cultured with cytokines TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , TGF $\beta$ 1, IL-15, IL-18, and IL-10 at concentrations corresponding to human biological fluids. Expression of MICA and NKG2D molecules on NK cells was assessed by flow cytometry after co-culture with trophoblast cells in the presence or absence of cytokine inhibitors, while cytokine levels in supernatants were measured using immunochemical methods. **Results:** The study demonstrated that CDKI modulates the expression of key molecules such as the activation receptor NKG2D and the stress molecule MICA, and influences the secretion of cytokines, including IL-10 and RANTES. Despite CDKI treatment, trophoblast interaction enhanced NK-cell cytotoxic activity, indicating preserved target recognition mechanisms and confirming the trophoblast's role in regulating NK-cell activity. Differential effects of pro-inflammatory cytokines (IL-18, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ ) on IL-10 production were observed following CDKI pre-treatment, suggesting potential crosstalk among intracellular signaling pathways. **Conclusion:**

These findings highlight the complex regulation of NK cell-trophoblast interactions and emphasize the need for further research into the use of CDK8/19 inhibitors to modulate immune responses, including applications in reproductive medicine.

**Keywords:** NK cells; trophoblast; cytokines; immune regulation; reproductive immunology

**For citation:** Grebenkina PV, Tyshchuk EV, Marko OB, et al. The prospects of regulating the interaction between NK cells and trophoblast cells through cyclin-dependent kinase inhibitors. *Research Results in Biomedicine*. 2026;12(2):316-333. Russian. DOI: 10.18413/2658-6533-2026-12-2-0-9

**Введение.** НК-клетки являются важным и актуальным объектом исследований в области репродуктивной иммунологии, поскольку они играют ключевую роль в регуляции ранних этапов беременности, включая имплантацию эмбриона и формирование фетально-материнского интерфейса [1, 2]. Их функциональная активность, особенно цитотоксический потенциал и способность к секреции цитокинов, находится под строгим контролем для обеспечения баланса между защитой организма от патогенов и толерантностью к полуаллогенному плоду. Вместе с тем, их участие в развитии репродуктивных заболеваний остается предметом дискуссий и активных научных исследований. Некоторые данные указывают на то, что избыточная цитотоксическая активность НК-клеток может негативно влиять на процесс имплантации и способствовать развитию таких состояний, как привычное невынашивание беременности или преэклампсия [3]. Тем не менее, результаты научных исследований остаются противоречивыми: у некоторых женщин с нарушениями репродуктивной функции отмечено снижение активности естественных киллеров. Это может быть обусловлено нарушением их нормального функционирования, что, в свою очередь, приводит к неспособности обеспечить полноценную поддержку развития плаценты [4, 5]. Таким образом, дальнейшее изучение фенотипических и функциональных характеристик НК-клеток при физиологической и патологической беременности имеет важное значение для понимания механизмов репродуктивных

нарушений и разработки целевых иммуномодулирующих терапий.

Наличие НК-клеток в ткани эндометрия создаёт условия для их непосредственного взаимодействия с клетками эмбрионального происхождения, в частности с клетками трофобласта – внешнего слоя бластоцисты [6]. Существует предположение, что трофобластные клетки способны влиять на характеристики и функции материнских НК-клеток как через прямые контактные механизмы, так и путём дистантных взаимодействий благодаря секреции различных биологически-активных веществ [7]. Одним из механизмов опосредованного влияния является секреция цитокинов со стороны клеток трофобласта [8]. Попадая в микроокружение и связываясь с соответствующими рецепторами на поверхности НК-клеток, цитокины активируют внутриклеточные сигнальные каскады, которые могут изменять функциональную активность этих клеток. Среди ключевых цитокинов, которые участвуют этом процессе, можно выделить IL-10, IFN $\gamma$  и RANTES. Они продуцируются как самими НК-клетками, так и могут влиять как на их собственные характеристики, так и на поведение клеток трофобласта во время беременности. В частности, воздействие RANTES способствует усилению пролиферации и миграции как НК-клеток, так и клеток трофобласта [9, 10]. В то же время, несмотря на способность IL-10 и IFN $\gamma$  повышать функциональную активность НК-клеток, эти цитокины проявляют антиинвазивное действие в отношении клеток трофобласта [11, 12].

Контактное взаимодействие между различными типами клеток в организме осуществляется посредством сложных лиганд-рецепторных механизмов. Эти механизмы играют ключевую роль в передаче сигналов, которые регулируют активность клеток и их функциональное состояние. Ярким примером такого взаимодействия служит связь между НК-клетками и клетками-мишенями, которая осуществляется через рецептор NKG2D. Этот рецептор экспрессируется на поверхности естественных киллеров и играет важную роль в их функционировании. Данный рецептор способен распознавать стресс-индуцированные молекулы, такие как MICA, которые появляются на поверхности повреждённых, инфицированных или трансформированных клеток. Взаимодействие NKG2D с MICA запускает мощный активационный сигнал, который приводит к реализации цитотоксических функций НК-клеток и последующей гибели клетки-мишени [13]. Однако важно отметить, что MICA может также экспрессироваться на самой поверхности НК-клеток, что играет важную роль в процессе аутокринной регуляции их активности. Подобный механизм играет ключевую роль в предотвращении избыточной активации иммунной системы и способствует поддержанию иммунологической толерантности. Это особенно важно в физиологических состояниях, таких как беременность, когда требуется тонкий баланс между эффективной защитой от патогенов и предотвращением иммунного ответа против полугенного плода [14]. Несмотря на значимость этих механизмов, состояние стресса у НК-клеток до сих пор остаётся недостаточно изученным явлением. Не до конца понятно, какие именно факторы могут вызывать стрессовые реакции в этих клетках, а также как это влияет на их функциональные свойства и взаимодействие с другими клеточными элементами. Кроме того, остаётся открытым вопрос о роли клеточных

компонентов микроокружения в контексте физиологической беременности – в частности, клеток трофобласта, которые потенциально могут инициировать или модулировать стрессовые реакции в НК-клетках.

Существуют значительные пробелы в понимании молекулярных механизмов, управляющих функциональной активностью НК-клеток и их взаимодействием с клетками трофобласта, что обуславливает необходимость поиска потенциальных регуляторов этих процессов для создания новых терапевтических стратегий.

Циклинзависимые киназы (CDK) представляют собой важную группу ферментов, участвующих в регуляции клеточного цикла и процессов транскрипции, обеспечивая своевременное развитие клеточных событий через взаимодействие с регуляторными субъединицами – циклинами [15]. Многие представители этого семейства киназ играют ключевые роли в передаче сигналов от внешних стимулов к ядру клетки, включая реакцию на действие различных цитокинов и других сигнальных молекул [16, 17]. Среди них особое внимание привлекают CDK8 и её близкий гомолог CDK19, являющиеся частью медиаторного комплекса, который взаимодействует с РНК-полимеразой II и участвует в регуляции инициации транскрипции [15].

В составе медиаторного комплекса CDK8/19 способны связываться с различными факторами транскрипции, обладающими специфичностью к определённым последовательностям ДНК, тем самым оказывая влияние на экспрессию генов, вовлечённых в ключевые клеточные процессы и сигнальные пути [18]. Благодаря своему участию в регуляции транскрипции и клеточной активности, CDK8/19 рассматриваются как потенциальные терапевтические мишени, особенно в контексте заболеваний, связанных с дисрегуляцией иммунного ответа и воспалительных реакций.

В настоящее время активно разрабатываются и изучаются ингибиторы CDK8/19 (ИЦК), которые демонстрируют высокую эффективность в модуляции транскрипционной активности и могут быть использованы в качестве перспективных терапевтических агентов при различных заболеваниях, включая онкологические и аутоиммунные [19, 20, 21]. Несмотря на явные перспективы данных соединений, до настоящего времени не проводилось исследований, направленных на оценку влияния этих соединений на функциональную активность НК-клеток и их взаимодействие с клетками трофобласта – процесс, имеющий критическое значение для успешного развития беременности. Такие исследования могли бы расширить понимание механизмов иммунной регуляции в условиях физиологической и патологической беременности и открыть новые возможности для создания целевых иммуномодулирующих препаратов.

**Цель исследования.** Исследование потенциальных эффектов, которые оказывают ИЦК на взаимодействие между НК-клетками и клетками трофобласта в условиях, моделирующих микроокружение при беременности.

#### **Материалы и методы исследования** **Клетки**

В исследовании были использованы хорошо охарактеризованные и широко применяемые в научной практике клеточные линии: НК-92 и JEG-3. Линия НК-92 была получена в 1992 году из периферической крови мужчины, страдающего быстро прогрессирующей неходжкинской лимфомой, и представляет собой активированные естественные киллеры (НК-клетки), обладающие выраженной цитотоксической активностью. Эта клеточная модель часто используется для изучения функциональных свойств НК-клеток, поскольку сохраняет ключевые характеристики первичных НК-клеток, включая экспрессию важнейших

рецепторов и способность к лизису мишеней [22].

Для изучения взаимодействия с НК-клетками в качестве клеток-мишеней была выбрана трофобластоподобная клеточная линия JEG-3, выделенная в 1974 году из штамма Эрвина-Тернера опухоли Вудса. JEG-3 обладает рядом свойств, характерных для трофобласта, включая секрецию гормонов, таких как хорионический гонадотропин, а также экспрессию различных мембранных молекул, участвующих в иммунном взаимодействии, что делает её удобной моделью для исследования фетально-материнских взаимоотношений на клеточном уровне [22, 23].

Культивирование обеих клеточных линий проводилось в строгом соответствии с рекомендациями, установленными поставщиком — коллекцией Американской типовой культуры (АТСС, США). Для поддержания жизнеспособности и пролиферативной активности клеток использовались соответствующие питательные среды, дополненные необходимыми ростовыми факторами, антибиотиками и сывороткой животных. Все эксперименты проводились с соблюдением условий асептики и контролируемого температурного режима, что обеспечивало воспроизводимость результатов и корректность интерпретации данных. Использование указанных клеточных моделей позволило создать адекватную *in vitro* систему для изучения механизмов взаимодействия НК-клеток и клеток трофобласта, а также оценки влияния различных модуляторов на их функциональную активность [22, 23].

#### **Индукторы**

Использовали цитокины TNF $\alpha$  (50 U/ml), IFN $\gamma$  (1000 U/ml), TGF $\beta$ 1 (5 ng/ml), IL-15 (10 ng/ml), IL-18 (10 ng/ml), IL-10 (10 ng/ml), ("RnD", США).

Указанные концентрации цитокинов соответствуют содержанию в биологических жидкостях человека, в том числе в зоне маточно-плацентарного контакта [24, 25].

### **Оценка экспрессии MICA и NKG2D NK-клетками в присутствии клеток трофобласта и ИЦК**

Клетки трофобласта линии JEG-3 высевали в культуральные флаконы для адгезивных клеточных культур площадью 25 см<sup>2</sup> (BD, США) в концентрации 200 000 клеток на 1 мл (общее количество – 1 000 000 клеток). По истечении 24 часов для окрашивания  $1,5 \times 10^6$  клеток линии NK-92 применяли сукцинимидиловый эфир карбоксифлуоресцеина (CFSE, carboxyfluorescein succinimidyl ester) («Sigma-Aldrich», США), соблюдая рекомендации, указанные производителем [7]. Для этого раствор CFSE добавляли во флаконы с клетками линии NK-92, после чего инкубировали при температуре 37°C, 5% CO<sub>2</sub> в течение 10 минут. Окраску останавливали, помещая на холод, затем отмывали холодным  $\alpha$ -MEM («Биолот», Россия), смешанный с бычьим сывороточным альбумином, доведенным до концентрации 0,5%. После обработки CFSE клетки линии NK-92 разводили в 5 мл полной ростовой среды для NK-клеток до концентрации 200 000 клеток на 1 мл и переносили во флаконы с клетками трофобласта линии JEG-3. Для обозначения варианта совместного культивирования клеток линий NK-92 и JEG-3 в тексте использовали термин «сокультура». В качестве контроля для оценки изменений фенотипа применяли интактные клетки линии NK-92, окрашенные CFSE и культивируемые в полной среде для NK-клеток, а также интактные клетки линии JEG-3, прокультивированные в полной среде для NK-клеток. Далее во флаконы с клетками линии NK-92, JEG-3, а также во флаконы с сокультурой добавляли цитокин TGF $\beta$  в концентрации 5 нг/мл. За 60 минут до начала эксперимента часть клеток культивировали в присутствии ИЦК (Кортистатин А) в дозе, не оказывающей влияния на жизнеспособность, после чего к ним также приливали цитокин TGF $\beta$ . После этого клетки инкубировали в течение 24 часов. Затем производили дезинтеграцию образовавшегося монослоя с помощью

культурального скребка, содержимое переносили в пробирки и центрифугировали (300g, 10 мин.), обрабатывали раствором «Fc-block» для предотвращения неспецифического связывания антител (Miltenyi Biotec, Испания), придерживаясь инструкций производителя [7]. Затем клетки подвергали обработке моноклональными антителами к NKG2D и MICA (BD, США) в соответствии с инструкциями производителя. Для контроля неспецифического связывания антител применяли изотипические антитела (BD, США). После инкубации при температуре 4°C в течение 20 минут проводили оценку фенотипа и интенсивности флуоресценции клеток с использованием проточного цитофлуориметра FACSantoII (BD, США).

### **Оценка концентрации цитокинов в супернатантах, полученных в результате инкубации клеток линии NK-92.**

Клетки переносили в культуральные флаконы объемом 25 см<sup>2</sup> («Sarstedt», Германия) по 900 000 клеток в 3 мл полной ростовой среды. Во все флаконы добавляли IL-2 (500 Ед/мл) («Биотех», Россия). Часть клеток культивировали без добавления индукторов, часть культивировали в присутствии ИЦК. Спустя 60 минут к клеткам в указанных ранее концентрациях добавляли цитокины TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , TGF $\beta$ 1, IL-15, IL-18 или IL-10, при этом часть клеток оставляли без индукторов в качестве контрольных образцов. Через 72 часа для продолжения стимуляции к клеткам вносили цитокины без или с добавлением ИЦК в 1,5 мл среды. Спустя 24 часа содержимое флаконов центрифугировали в течение 5 минут при 2500g, супернатанты замораживали при температуре -20°C. Для определения уровня IL-10, RANTES и IFN $\gamma$  применяли тест-наборы (BD, США), выполняя процедуру согласно предоставленным производителем указаниям. Измерения проводили с использованием проточного цитофлуориметра FACSCanto II («BD», США).

### Статистический анализ полученных данных.

Каждый эксперимент включал четыре независимых биологических повтора, при этом в рамках каждого биологического повтора выполнялось по два технических повтора для каждого исследуемого условия культивирования. Статистическая обработка экспериментальных данных осуществлялась с использованием программного обеспечения GraphPad Prism 8. Предварительная проверка на нормальность распределения выборок проводилась с применением критерия Шапиро–Уилка. Далее использовали непараметрический аналог t-критерия Стьюдента – тест Манна-Уитни. Статистически значимыми признавали различия при  $p < 0,05$ .

#### Результаты и их обсуждение

#### Анализ экспрессии NK-клетками рецептора NKG2D и его лиганда MICA без и в присутствии TGFβ и ИЦК

Установлено, что клетки линии NK-92 спонтанно экспрессируют на своей поверхности рецептор NKG2D (99,74

{99,58; 99,89}) и стрессорную молекулу MICA (32,75 {31,87; 41,81}) (Рис. 1А) (данные об экспрессии молекул отражены в таблице 1 «Уровень экспрессии рецептора NKG2D и стресс-молекулы MICA на естественных киллерах (NK-клетки)», отражающей медиану {25% перцентиль; 75% перцентиль}), что согласуется с полученными нами ранее данными по фенотипу для данной клеточной линии [14]. Количество клеток линии NK-92, экспрессирующих активирующий рецептор NKG2D на своей поверхности, оставалось неизменным как при моно и сокультивировании (Рис. 1А). При этом было отмечено увеличение интенсивности экспрессии рецептора NKG2D клетками линии NK-92 после их совместного культивирования с клетками трофобласта линии JEG-3 по сравнению с интактными клетками NK-92 (Рис. 1В). При этом, интенсивность экспрессии рецептора NKG2D NK-клетками не менялась ни при воздействии индукторов в моно-, ни в сокультуре.

Таблица 1

Уровень экспрессии рецептора NKG2D и стресс-молекулы MICA на естественных киллерах (NK-клетки)

Table 1

Expression levels of the NKG2D receptor and the stress molecule MICA on natural killer cells (NK cells)

	int	TGFβ	ИЦК	TGF+ИЦК
%NKG2D	99,74 {99,58; 99,89}	99,61 {98,14; 99,94}	100,0 {99,0; 100,0}	98,61 {96,08; 99,01}
%MICA	32,75 {31,87; 41,81}	29,74 {9,28; 30,88}	26,2 {11,1; 37,2}	20,77 {8,17; 41,87}

При культивировании клеток линии NK-92 в присутствии цитокина TGFβ наблюдалось снижение числа клеток, демонстрирующих экспрессию стресс-ассоциированной молекулы MICA, в сравнении с контролем без добавления цитокинов (Рис. 1С). После совместного культивирования с клетками JEG-3 также было зафиксировано уменьшение количества клеток, экспрессирующих молекулу MICA, по сравнению с монокультурой NK-клеток (Рис. 1С). Другие протестированные индукторы не оказали значимого влияния на уровень

экспрессии MICA ни в моно-, ни в сокультуре.

Интенсивность флуоресценции молекулы MICA на клетках линии NK-92 увеличивалась после их совместного культивирования с клетками трофобласта линии JEG-3 по сравнению с исходным уровнем (Рис. 1D). Однако обработка ингибиторами ИЦК приводила к снижению данного показателя (Рис. 1D). Другие индукторы, использованные в работе, не влияли на интенсивность экспрессии стресс-ассоциированной молекулы MICA клетками линии NK-92.

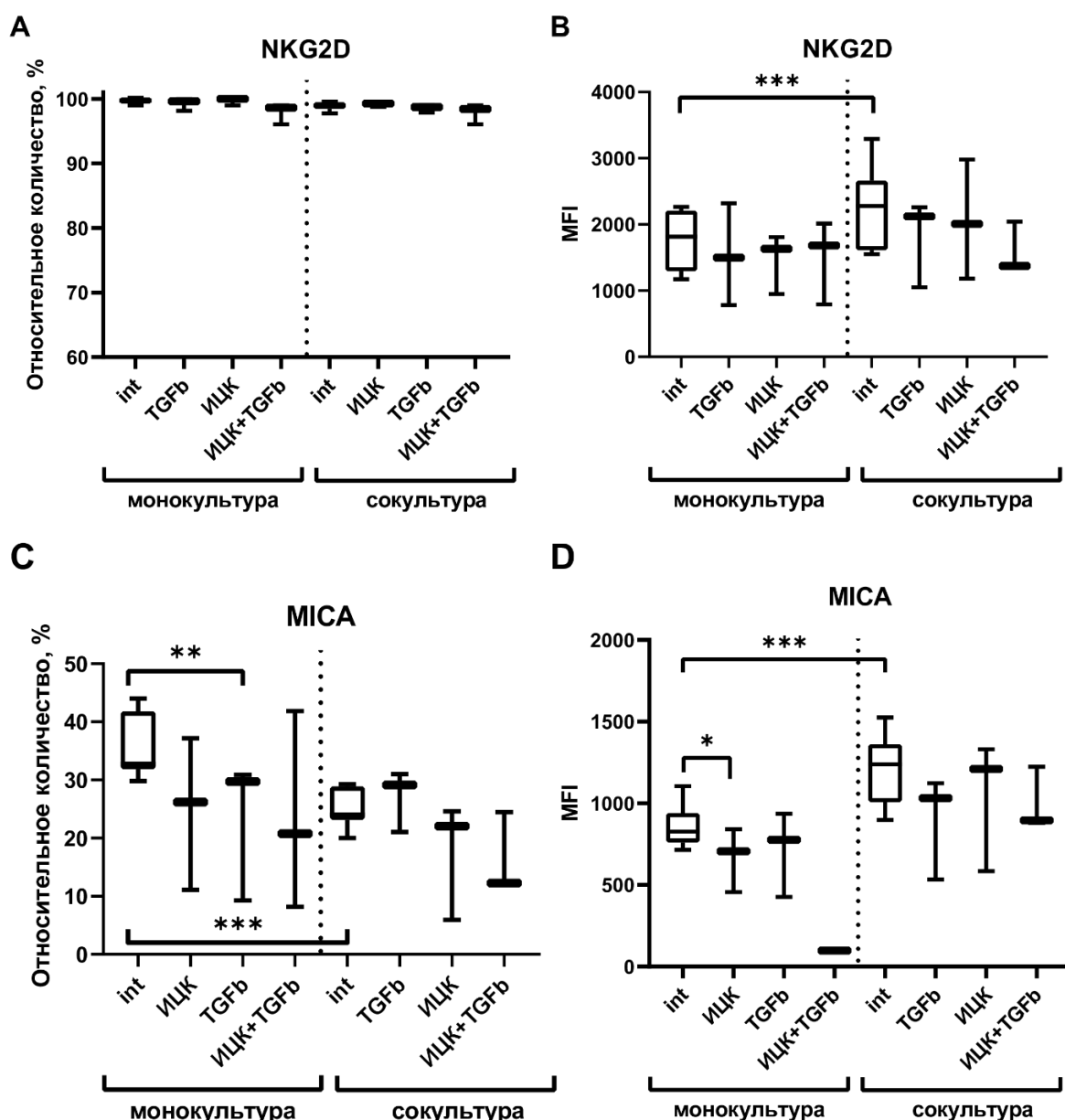


Рис. 1. Экспрессия NKG2D и MICA клетками линии NK-92: относительное количество клеток, экспрессирующих NKG2D (A) или MICA (C), после культивирования в течение 24 часов, интенсивность экспрессии NKG2D (B) или MICA (D), клетками после культивирования в течение 24 часов.

Примечание: интактные NK-клетки в составе моно- или сокультуры (int), NK-клетки в присутствии TGFβ (TGFb), NK-клетки, обработанные ИЦК (ИЦК), NK-клетки, обработанные ИЦК, в присутствии TGFβ (ИЦК+TGFb). \* - p < 0,05, \*\* - p < 0,01, \*\*\* - p < 0,001. Линия в боксе отражает медиану.

Fig. 1. Expression of NKG2D and MICA by NK-92 cell line: relative number of cells expressing NKG2D (A) or MICA (C) after 24-hour cultivation, and the intensity of NKG2D (B) or MICA (D) expression by cells after 24-hour cultivation.

Note: intact NK-cells in mono- or co-culture (int), NK-cells in the presence of TGFβ (TGFb), NK-cells treated with CDKI inhibitors (CDKI), and NK-cells treated with CDKI in the presence of TGFβ (CDKI+TGFb). \* - p < 0.05, \*\* - p < 0.01, \*\*\* - p < 0.001. The line within the box represents the median.

### Анализ секретома NK-клеток в присутствии ИЦК и цитокинов

Выявлено, что клетки линии NK-92 спонтанно продуцируют цитокины IFNγ,

RANTES, IL-10, что согласуется с данными литературы [26, 27].

Уровень цитокина IFNγ в супернатанте снизился после

культивирования клеток, предварительно подвергнутых воздействию ИЦК, в присутствии IL-10, по сравнению с его содержанием в средах после культивирования клеток линии NK-92,

необработанных ИЦК, и прокультивированных с цитокином (Рис. 2А). При иных условиях культивирования изменений концентрации цитокина в супернатанте обнаружено не было.

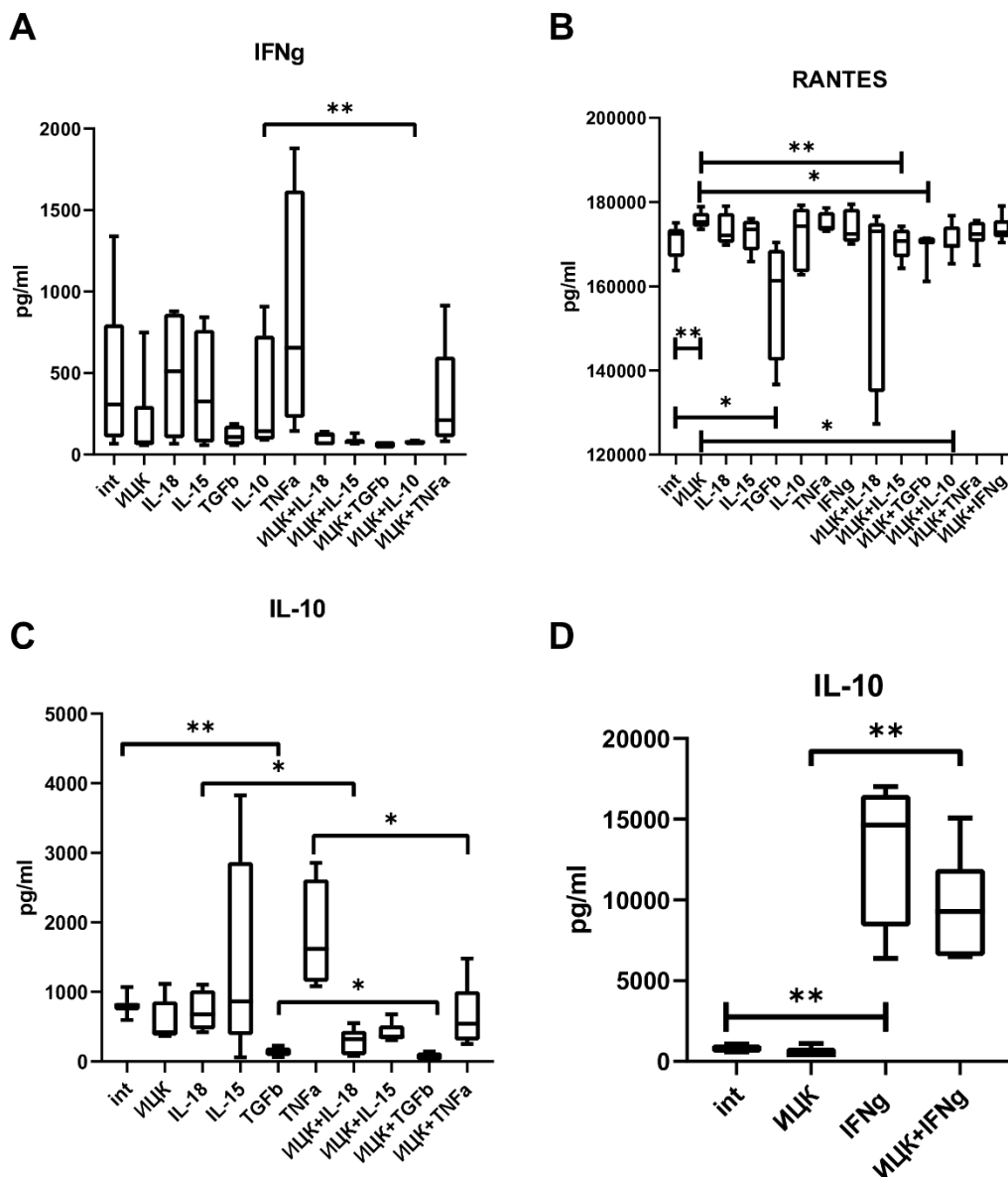


Рис. 2. Содержание цитокинов IFN $\gamma$  (A), RANTES (B) и IL-10 (C, D) в супернатантах после культивирования клеток линии NK-92 в течение 96 часов при различных условиях.

Примечание: интактные NK-клетки (int), NK-клетки в присутствии ИЦК (ИЦК), NK-клетки в присутствии цитокинов (IL-18/IL-15/TGF $\beta$ /IL-10/TNF $\alpha$ /IFN $\gamma$ ), NK-клетки, обработанные ИЦК, в присутствии цитокинов (ИЦК + IL-18/IL-15/TGF $\beta$ /IL-10/TNF $\alpha$ /IFN $\gamma$ ). \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ . Линия в боксе отражает медиану.

Fig. 2. The content of cytokines IFN $\gamma$  (A), RANTES (B), and IL-10 (C, D) in supernatants after 96-hour cultivation of NK-92 cell line under various conditions.

Note: intact NK-cells (int), NK-cells in the presence of CDK inhibitors (CDKI), NK-cells in the presence of cytokines (IL-18/IL-15/TGF $\beta$ /IL-10/TNF $\alpha$ /IFN $\gamma$ ), and NK-cells treated with CDKI in the presence of cytokines (CDKI + IL-18/IL-15/TGF $\beta$ /IL-10/TNF $\alpha$ /IFN $\gamma$ ). \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ . The line within the box represents the median.

Концентрация RANTES была выше в проанализированных кондиционированных средах, полученных от культивирования клеток линии NK-92 в присутствии ИЦК по сравнению с необработанными клетками, однако при добавлении цитокинов TGF $\beta$ , IL-10 или IL-18 этот эффект ИЦК отменялся, количество RANTES снижалось. Также концентрация RANTES в супернатантах понижалась при добавлении TGF $\beta$  к клеткам линии NK-92 относительно концентрация RANTES в супернатантах от интактных клеток. В отличие от TGF $\beta$ , другие цитокины не оказывали подобного эффекта на уровень RANTES.

Концентрация цитокина IL-10 в супернатантах снижалась после культивирования клеток линии NK-92 в присутствии TGF $\beta$  относительно необработанных клеток, однако предварительная обработка клеток ИЦК приводила к еще большему снижению содержания цитокина в системе. Кроме того, предварительная обработка клеток ИЦК приводила к снижению содержания IL-10 при культивировании с цитокинами IL-18 или TNF $\alpha$  по сравнению с содержанием белка в среде, полученной от культивирования в присутствии только цитокинов. Культивирование клеток линии NK-92, предварительно обработанных ИЦК, в присутствии цитокина IFN $\gamma$  вызывало повышение уровня белка в супернатантах после культивирования по сравнению с его содержанием в супернатантах, полученных при культивировании клеток без добавления цитокина.

**Заключение.** Взаимодействие NK-клеток с клетками трофобласта представляет собой ключевое направление исследований в современной репродуктивной иммунологии и требует дальнейшего изучения с целью поиска возможных способов его регуляции, которые могут лечь в основу разработки новых терапевтических подходов для профилактики и лечения заболеваний, возникающих при беременности. Одной из

потенциальных мишеней для фармакологического воздействия могут являться циклинзависимые киназы, ингибирование которых способно изменять экспрессию генов в клетках, модулируя их фенотипические характеристики и секретом, что, в свою очередь, влияет на функциональную активность клеток [28]. В рамках настоящего исследования изучалось влияние селективного ингибирования CDK8 и CDK19 на взаимодействие NK-клеток с клетками трофобласта — процесс, играющий решающую роль в имплантации эмбриона и последующем развитии беременности. Полученные данные могут способствовать углублению понимания молекулярных механизмов, регулирующих фетально-материнские взаимодействия, и открыть новые перспективы для иммуномодулирующей терапии при репродуктивных заболеваниях.

На первом этапе исследования оценивали экспрессию активационного рецептора NKG2D, а также маркера стресса MICA NK-клетками линии NK-92. При культивировании в присутствии цитокина TGF $\beta$  количество NK-клеток, экспрессирующих MICA на своей поверхности снижалось.

Кроме того, было установлено, что интенсивность экспрессии молекулы MICA на поверхности клеток линии NK-92 снижалась после культивирования с ИЦК. Это может свидетельствовать о снижении уровня клеточного стресса и уменьшении риска их распознавания и лизиса другими иммунными клетками, что имеет значение для регуляции активности NK-клеток в физиологических и патологических условиях.

Однако в сокультуре с клетками трофобласта описанные эффекты отменялись. Поскольку интенсивность экспрессии NKG2D и MICA увеличена в сокультуре с клетками трофобласта по сравнению с монокультурой, вероятно в присутствии ИЦК или TGF $\beta$  происходят сходные события, экспрессия рецептора NKG2D и стрессорной молекулы MICA

НК-клетками компенсируется, что выражается в отмене ингибирующих эффектов ИЦК или TGF $\beta$ . Одновременно с этим повышение уровня экспрессии рецептора NKG2D на поверхности НК-клеток в условиях сокультивирования свидетельствует об активации их цитотоксических свойств при контакте с клетками трофобласта [29, 30]. Повышение уровня экспрессии НК-клетками MICA может свидетельствовать об индуцированном усиленном надзором за ними со стороны киллерных клеток иммунной системы, приводя к сокращению численности популяции НК-клеток из-за их элиминации [31, 32]. Полученные данные могут отражать роль клеток трофобласта в регуляции количества и функциональной активности НК-клеток матки при беременности.

Поскольку цитокиновое и клеточное микроокружение способствует приобретению характеристик децидуальных НК-клеток в течение длительного времени [33, 34], для изучения секрета НК-клеток нами было принято решение о пролонгированном культивировании в присутствии ИЦК и факторов, характерных для беременности (время культивирования составило 96 часов).

Ранее мы обнаружили цитокины IFN $\gamma$ , RANTES и IL-10 в супернатантах, полученных после культивирования интактных клеток линии НК-92 [35]. Данные цитокины также характерны для НК-клеток, наши данные согласуются с данными литературы [26, 27]. В данной работе исследовали изменения цитокинового профиля НК-клеток под воздействием ИЦК, а также цитокинов, типичных для микроокружения во время беременности.

В ходе предыдущих исследований нами были выявлены цитокины IFN $\gamma$ , RANTES и IL-10 в супернатантах, полученных после культивирования интактных клеток линии НК-92 [35]. Стоит отметить, что данные цитокины являются характерными маркерами для НК-клеток,

что подтверждается многочисленными литературными источниками. Наши результаты полностью согласуются с ранее опубликованными данными [26, 27]. В данной работе исследовали изменяли цитокиновый профиль НК-клеток под воздействием ИЦК, включая цитокины, характерные для микроокружения во время беременности. Это дополнительно подчеркивает достоверность и корреляцию наших данных с современными представлениями о функциональной активности НК-клеток.

В присутствии TGF $\beta$  в супернатантах выявлено пониженное содержание IL-10 по сравнению с интактными клетками, однако культивирование в присутствии ИЦК вызывало еще большее понижение содержания IL-10 в средах. IL-10 может выступать в качестве стимулятора эффекторных функций НК-клеток [36]. В то же время, этот цитокин способен подавлять инвазивный потенциал клеток трофобласта [11]. Таким образом, снижение продукции IL-10 под действием TGF $\beta$  может служить одним из механизмов регуляции активности НК-клеток со стороны клеток трофобласта и других компонентов микроокружения.

Продукция НК-клетками IL-10 не менялась в ответ на добавление ИЦК, IL-18 или TNF $\alpha$  по отдельности. Однако культивирование в комбинации ИЦК+IL-18 или ИЦК+TNF $\alpha$  приводило к снижению секреции IL-10 НК-клетками. Культивирование предварительно обработанных ИЦК клеток в присутствии IFN $\gamma$  вызывало увеличение содержания IL-10 в супернатантах, относительно его уровня в средах, полученных от культивирования клеток, обработанных только ИЦК. В литературе имеются данные об участии CDK8/19 в ингибировании процесса синтеза IL-10 [37]. Таким образом, цитокины IL-18, TNF $\alpha$  и IFN $\gamma$  в условиях преинкубации НК-клеток с ИЦК по-разному проявляют действие в отношении продукции IL-10: IL-18 и TNF $\alpha$  снижают, а IFN $\gamma$  повышает секрецию IL-10 клетками линии НК-92. Нам не удалось

найти в литературе данных о роли CDK8/19 или их ингибиторов в индукции клеточного ответа на действие IL-18 или TNF $\alpha$ . Вероятно, в этом случае возможен перекрест внутриклеточных сигнальных путей цитокинов и ИЦК, что приводит к появлению нового эффекта. Однако это предположение требует дополнительной проверки.

Обработка НК-клеток ИЦК стимулировала продукцию ими RANTES. Показано, что для начала синтеза мРНК RANTES требуется активация белков, которые регулируют транскрипцию интерферонов (от англ. interferon regulatory factors - IRF) и NF- $\kappa$ B [38]. В то же время ИЦК могут подавлять элонгацию NF- $\kappa$ B-индуцированной транскрипции в клетках линий, отличных от NK-92 [39]. Таким образом, ИЦК потенциально могут регулировать функции НК-клеток за счет увеличения синтеза RANTES. Однако в присутствии цитокинов IL-15 или TGF $\beta$  отмечалось снижение продукции RANTES клетками линии NK-92.

В рамках исследования была проанализирована возможность регуляции как контактных, так и дистантных взаимодействий между клетками трофобласта и НК-клетками, опосредованных цитокинами, с использованием ингибиторов циклинзависимых киназ 8/19 (ИЦК). Результаты показали, что клетки трофобласта могут усиливать цитотоксическую активность НК-клеток путем повышения экспрессии активирующего рецептора NKG2D на поверхности естественных киллеров. Кроме того, установлено, что прямой контакт с клетками трофобласта стимулирует экспрессию стресс-ассоциированной молекулы MICA на мембране НК-клеток. Это может играть важную роль в регуляции их активности, обеспечивая обратную связь со стороны других иммунных клеток через механизм аутокринного взаимодействия.

Культивирование клеток в присутствии ИЦК не приводило к блокированию данных эффектов, вызванных клетками трофобласта, что

указывает на сохранение ключевых механизмов взаимодействия НК-клеток с мишенью при воздействии этого фактора. Полученные данные имеют важное значение для понимания влияния ИЦК на иммунные клетки и открывают перспективы для их применения в клинической практике, особенно в онкологии, где модуляция активности естественных киллеров играет ключевую роль в обеспечении противоопухолевого иммунного ответа. Результаты могут способствовать разработке более эффективных и безопасных терапевтических стратегий.

Анализ влияния цитокинов IL-18, TNF $\alpha$  и IFN $\gamma$  на НК-клетки в присутствии ИЦК выявил различия в их воздействии на продукцию противовоспалительного цитокина IL-10. Это указывает на возможное взаимодействие внутриклеточных сигнальных путей, модулируемых ингибиторами CDK8/19. Полученные данные подчеркивают важность учёта таких перекрёстных взаимодействий при разработке стратегий регуляции активности НК-клеток и их взаимодействия с клетками трофобласта в условиях беременности.

### **Информация о финансировании**

*Поддержано ФНИ №1024032800230-9-3.2.2, «Универсальные и специфические механизмы реализации и нарушений репродуктивной функции в семье», рук. д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН Коган И.Ю.*

### **Financial support**

*Supported by the Fundamental Scientific Research Program №1024032800230-9-3.2.2, "Universal and Specific Mechanisms of Reproductive Function Implementation and Disorders in the Family," led by Doctor of Medical Sciences, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, I.Yu. Kogan.*

### **Конфликт интересов**

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

### **Conflict of interests**

*The authors have no conflict of interest to declare.*

### Список литературы

1. Lombardi AEM, Habets DHJ, Al-Nasiry S, et al. Natural Killer Cell Education in Women With Recurrent Pregnancy Loss. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2025;93(2):e70045. DOI: <https://doi.org/10.1111/aji.70045>
2. Mai C, Fukui A, Saeki S, et al. Expression of NKp46 and other activating inhibitory receptors on uterine endometrial NK cells in females with various reproductive failures: A review. *Reproductive Medicine and Biology*. 2025;24(1):e12610. DOI: <https://doi.org/10.1002/rmb2.12610>
3. Dimakou DB, Tamblyn J, Lissauer D, Richter A. Evaluation of peripheral NK tests offered to women with recurrent pregnancy loss and a search for novel candidate biomarkers. *Journal of Reproductive Immunology*. 2025;169:104522. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jri.2025.104522>
4. Babayeva G, Purut YE, Giray B, et al. Endometrial CD56+ natural killer cells in women with recurrent implantation failure: An immunohistochemical study. *Turkish Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2020;17(4):236-239. DOI: <https://doi.org/10.4274/tjod.galenos.2020.90359>
5. Marron K, Harrity C. Comparing surface immune markers in successful and non-viable ART pregnancies on the day of hCG measurement: a prospective pilot study. *Reproduction and Fertility*. 2025;6(1):e240034. DOI: <https://doi.org/10.1530/raf-24-0034>
6. Liu J, Dong P, Wen X, et al. Studys on the effect of decidual stromal cells and trophoblast cells on cytokine secretion by decidual NK cells. *Gynecological Endocrinology*. 2025;41(1):2497857. DOI: <https://doi.org/10.1080/09513590.2025.2497857>
7. Mikhailova V, Khokhlova E, Grebenkina P, et al. NK-92 cells change their phenotype and function when cocultured with IL-15, IL-18 and trophoblast cells. *Immunobiology*. 2021;226(5):152125. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2021.152125>
8. Harper CV, Eccles L, Henstock J, et al. Trophoblast-derived factors drive human mesenchymal stem cell differentiation along an endothelial lineage: A model of early placental vasculogenesis. *Reproductive Biology*. 2025;25(1):100994. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.repbio.2025.100994>
9. Jasinska AJ, Pandrea I, Apetrei C. CCR5 as a Coreceptor for Human Immunodeficiency Virus and Simian Immunodeficiency Viruses: A Prototypic Love-Hate Affair. *Frontiers in Immunology*. 2022;13:835994. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.835994>
10. Zhang S, Ding J, Zhang Y, et al. Regulation and Function of Chemokines at the Maternal-Fetal Interface. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2022;10:826053. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.826053>
11. Roth I, Fisher SJ. IL-10 is an autocrine inhibitor of human placental cytotrophoblast MMP-9 production and invasion. *Developmental Biology*. 1999;205(1):194-204. DOI: <https://doi.org/10.1006/dbio.1998.9122>
12. Lash GE, Otun HA, Innes BA, et al. Interferon-gamma inhibits extravillous trophoblast cell invasion by a mechanism that involves both changes in apoptosis and protease levels. *FASEB Journal*. 2006;20(14):2512-2518. DOI: <https://doi.org/10.1096/fj.06-6616com>
13. Siemaszko J, Łacina P, Szymczak D, et al. Soluble MICA concentrations and genetic variability of MICA and its NKG2D receptor as factors affecting Graft-versus-Host Disease development after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Human Immunology*. 2024;85(6):111147. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2024.111147>
14. Tyshchuk E, Grebenkina P, Krutetskaya I, et al. Endoglin Regulates Intercellular Interactions between Trophoblast and Natural Killer Cells. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*. 2024;60(3):930-946. DOI: <https://doi.org/10.1134/S0022093024030074>
15. Dannappel MV, Sooraj D, Loh JJ, et al. Molecular and in vivo Functions of the CDK8 and CDK19 Kinase Modules. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2019;6:171. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcell.2018.00171>
16. Yamamoto S, Hagihara T, Horiuchi Y, et al. Mediator cyclin-dependent kinases upregulate transcription of inflammatory genes in cooperation with NF-κB and C/EBPβ on stimulation of Toll-like receptor 9. *Genes to Cells*. 2017;22(3):265-276. DOI: <https://doi.org/10.1111/gtc.12475>
17. Fant CB, Taatjes DJ. Regulatory functions of the Mediator kinases CDK8 and CDK19. *Transcription*. 2019;10(2):76-90. DOI: <https://doi.org/10.1080/21541264.2018.1556915>

18. Bancerek J, Poss ZC, Steinparzer I, et al. CDK8 kinase phosphorylates transcription factor STAT1 to selectively regulate the interferon response. *Immunity*. 2013;38(2):250-262. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2012.10.017>
19. Hofmann MH, Mani R, Engelhardt H, et al. Selective and Potent CDK8/19 Inhibitors Enhance NK-Cell Activity and Promote Tumor Surveillance. *Molecular Cancer Therapeutics*. 2020;19(4):1018-1030. DOI: <https://doi.org/10.1158/1535-7163.mct-19-0789>
20. Dubey R, Makhija R, Sharma A, et al. Unveiling the promise of pyrimidine-modified CDK inhibitors in cancer treatment. *Bioorganic Chemistry*. 2024;149:107508. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2024.107508>
21. Cicenas J, Simkus J. CDK Inhibitors and FDA: Approved and Orphan. *Cancers*. 2024;16(8):1555. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers16081555>
22. Kohler PO, Bridson WE. Isolation of hormone-producing clonal lines of human choriocarcinoma. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1971;32(5):683-687. DOI: <https://doi.org/10.1210/jcem-32-5-683>
23. Hannan NJ, Paiva P, Dimitriadis E, et al. Models for study of human embryo implantation: choice of cell lines? *Biology of Reproduction*. 2010;82(2):235-245. DOI: <https://doi.org/10.1095/biolreprod.109.077800>
24. Klimkiewicz-Blok D, Florjański J, Zalewski J, et al. Analysis of the concentrations of interleukin 15 in amniotic fluid in the second and the third trimesters of pregnancy. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*. 2012;21(1):75-79.
25. Klimkiewicz-Blok D, Florjański J, Zalewski J, et al. Analysis of the concentrations of interleukin 18 in amniotic fluid in the second and the third trimesters of pregnancy *Advances in Clinical and Experimental Medicine*. 2013;22(5):699-703.
26. Elemam NM, Hannawi S, Maghazachi AA. Role of Chemokines and Chemokine Receptors in Rheumatoid Arthritis. *Immunotargets and Therapy*. 2020;9:43-56. DOI: <https://doi.org/10.2147/itt.s243636>
27. Clark SE, Burrack KS, Jameson SC, et al. NK Cell IL-10 Production Requires IL-15 and IL-10 Driven STAT3 Activation. *Frontiers in Immunology*. 2019;10:2087. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02087>
28. Asghar A, Chohan TA, Khurshid U, et al. A systematic review on understanding the mechanistic pathways and clinical aspects of natural CDK inhibitors on cancer progression.: Unlocking cellular and biochemical mechanisms. *Chemico-biological Interactions*. 2024;393:110940. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2024.110940>
29. Zhi L, Zhang Z, Gao Q, et al. CAR-NK cells with dual targeting of PD-L1 and MICA/B in lung cancer tumor models. *BMC Cancer*. 2025;25(1):337. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12885-025-13780-2>
30. Yi E, Lee E, Park HJ, et al. A chimeric antigen receptor tailored to integrate complementary activation signals potentiates the antitumor activity of NK cells. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*. 2025;44(1):86. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13046-025-03351-5>
31. Xing S, Ferrari de Andrade L. NKG2D and MICA/B shedding: a 'tag game' between NK cells and malignant cells. *Clinical and Translational Immunology*. 2020;9(12):e1230. DOI: <https://doi.org/10.1002/cti2.1230>
32. Kim S, Kwak JE, Koh JY, et al. NKG2D-mediated cytotoxicity of CD4 cytotoxic T cells in multiple myeloma. *Blood*. 2025;146(4):456-470. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood.2024025875>
33. Chiossone L, Vacca P, Orecchia P, et al. In vivo generation of decidual natural killer cells from resident hematopoietic progenitors. *Haematologica*. 2014;99(3):448-457. DOI: <https://doi.org/10.3324/haematol.2013.091421>
34. Keskin DB, Allan DS, Rybalov B, et al. TGFbeta promotes conversion of CD16+ peripheral blood NK cells into CD16- NK cells with similarities to decidual NK cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2007;104(9):3378-3383. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0611098104>
35. Гребенкина ПВ, Михайлова ВА, Беспалова ОН, и др. Регуляция цитокинового профиля НК-клеток факторами микроокружения, характерными для беременности. *Медицинская иммунология*. 2025;27(2):445-450. DOI: <https://doi.org/10.15789/1563-0625-ROT-3061>
36. Wang Z, Guan D, Huo J, et al. IL-10 Enhances Human Natural Killer Cell Effector Functions via Metabolic Reprogramming Regulated by mTORC1 Signaling. *Frontiers in Immunology*. 2021;12:619195. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.619195>

37. Johannessen L, Sundberg TB, O'Connell DJ, et al. Small-molecule studies identify CDK8 as a regulator of IL-10 in myeloid cells. *Nature Chemical Biology*. 2017;13(10):1102-1108. DOI: <https://doi.org/10.1038/nchembio.2458>

38. Génin P, Algarté M, Roof P, et al. Regulation of RANTES chemokine gene expression requires cooperativity between NF-kappa B and IFN-regulatory factor transcription factors. *Journal of Immunology*. 2000;164(10):5352-5361. DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.164.10.5352>

39. Chen M, Liang J, Ji H, et al. CDK8/19 Mediator kinases potentiate induction of transcription by NFkappaB. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2017;114(38):10208-10213. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1710467114>

### References

1. Lombardi AEM, Habets DHJ, Al-Nasiry S, et al. Natural Killer Cell Education in Women With Recurrent Pregnancy Loss. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2025;93(2):e70045. DOI: <https://doi.org/10.1111/aji.70045>

2. Mai C, Fukui A, Saeki S, et al. Expression of NKp46 and other activating inhibitory receptors on uterine endometrial NK cells in females with various reproductive failures: A review. *Reproductive Medicine and Biology*. 2025;24(1):e12610. DOI: <https://doi.org/10.1002/rmb2.12610>

3. Dimakou DB, Tamblyn J, Lissauer D, Richter A. Evaluation of peripheral NK tests offered to women with recurrent pregnancy loss and a search for novel candidate biomarkers. *Journal of Reproductive Immunology*. 2025;169:104522. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jri.2025.104522>

4. Babayeva G, Purut YE, Giray B, et al. Endometrial CD56+ natural killer cells in women with recurrent implantation failure: An immunohistochemical study. *Turkish Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2020;17(4):236-239. DOI: <https://doi.org/10.4274/tjod.galenos.2020.90359>

5. Marron K, Harrity C. Comparing surface immune markers in successful and non-viable ART pregnancies on the day of hCG measurement: a prospective pilot study. *Reproduction and Fertility*. 2025;6(1):e240034. DOI: <https://doi.org/10.1530/raf-24-0034>

6. Liu J, Dong P, Wen X, et al. Studys on the effect of decidual stromal cells and trophoblast cells on cytokine secretion by decidual NK cells. *Gynecological Endocrinology*. 2025;41(1):2497857. DOI: <https://doi.org/10.1080/09513590.2025.2497857>

7. Mikhailova V, Khokhlova E, Grebenkina P, et al. NK-92 cells change their phenotype and function when cocultured with IL-15, IL-18 and trophoblast cells. *Immunobiology*. 2021;226(5):152125. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2021.152125>

8. Harper CV, Eccles L, Henstock J, et al. Trophoblast-derived factors drive human mesenchymal stem cell differentiation along an endothelial lineage: A model of early placental vasculogenesis. *Reproductive Biology*. 2025;25(1):100994. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.repbio.2025.100994>

9. Jasinska AJ, Pandrea I, Apetrei C. CCR5 as a Coreceptor for Human Immunodeficiency Virus and Simian Immunodeficiency Viruses: A Prototypic Love-Hate Affair. *Frontiers in Immunology*. 2022;13:835994. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.835994>

10. Zhang S, Ding J, Zhang Y, et al. Regulation and Function of Chemokines at the Maternal-Fetal Interface. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2022;10:826053. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcell.2022.826053>

11. Roth I, Fisher SJ. IL-10 is an autocrine inhibitor of human placental cytotrophoblast MMP-9 production and invasion. *Developmental Biology*. 1999;205(1):194-204. DOI: <https://doi.org/10.1006/dbio.1998.9122>

12. Lash GE, Otun HA, Innes BA, et al. Interferon-gamma inhibits extravillous trophoblast cell invasion by a mechanism that involves both changes in apoptosis and protease levels. *FASEB Journal*. 2006;20(14):2512-2518. DOI: <https://doi.org/10.1096/fj.06-6616com>

13. Siemaszko J, Łacina P, Szymczak D, et al. Soluble MICA concentrations and genetic variability of MICA and its NKG2D receptor as factors affecting Graft-versus-Host Disease development after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Human Immunology*. 2024;85(6):111147. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2024.111147>

14. Tyshchuk E, Grebenkina P, Krutetskaya I, et al. Endoglin Regulates Intercellular Interactions between Trophoblast and Natural Killer Cells. *Journal of Evolutionary*

Biochemistry and Physiology. 2024;60(3):930-946. DOI:

<https://doi.org/10.1134/S0022093024030074>

15. Dannappel MV, Sooraj D, Loh JJ, et al. Molecular and in vivo Functions of the CDK8 and CDK19 Kinase Modules. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2019;6:171. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcell.2018.00171>

16. Yamamoto S, Hagihara T, Horiuchi Y, et al. Mediator cyclin-dependent kinases upregulate transcription of inflammatory genes in cooperation with NF- $\kappa$ B and C/EBP $\beta$  on stimulation of Toll-like receptor 9. *Genes to Cells*. 2017;22(3):265-276. DOI: <https://doi.org/10.1111/gtc.12475>

17. Fant CB, Taatjes DJ. Regulatory functions of the Mediator kinases CDK8 and CDK19. *Transcription*. 2019;10(2):76-90. DOI: <https://doi.org/10.1080/21541264.2018.1556915>

18. Bancerek J, Poss ZC, Steinparzer I, et al. CDK8 kinase phosphorylates transcription factor STAT1 to selectively regulate the interferon response. *Immunity*. 2013;38(2):250-262. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2012.10.017>

19. Hofmann MH, Mani R, Engelhardt H, et al. Selective and Potent CDK8/19 Inhibitors Enhance NK-Cell Activity and Promote Tumor Surveillance. *Molecular Cancer Therapeutics*. 2020;19(4):1018-1030. DOI: <https://doi.org/10.1158/1535-7163.mct-19-0789>

20. Dubey R, Makhija R, Sharma A, et al. Unveiling the promise of pyrimidine-modified CDK inhibitors in cancer treatment. *Bioorganic Chemistry*. 2024;149:107508. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2024.107508>

21. Cicenas J, Simkus J. CDK Inhibitors and FDA: Approved and Orphan. *Cancers*. 2024;16(8):1555. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers16081555>

22. Kohler PO, Bridson WE. Isolation of hormone-producing clonal lines of human choriocarcinoma. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1971;32(5):683-687. DOI: <https://doi.org/10.1210/jcem-32-5-683>

23. Hannan NJ, Paiva P, Dimitriadis E, et al. Models for study of human embryo implantation: choice of cell lines? *Biology of Reproduction*. 2010;82(2):235-245. DOI: <https://doi.org/10.1095/biolreprod.109.077800>

24. Klimkiewicz-Blok D, Florjański J, Zalewski J, et al. Analysis of the concentrations of interleukin 15 in amniotic fluid in the second and the third trimesters of pregnancy. *Advances in*

*Clinical and Experimental Medicine*. 2012;21(1):75-79.

25. Klimkiewicz-Blok D, Florjański J, Zalewski J, et al. Analysis of the concentrations of interleukin 18 in amniotic fluid in the second and the third trimesters of pregnancy *Advances in Clinical and Experimental Medicine*. 2013;22(5):699-703.

26. Elemam NM, Hannawi S, Maghazachi AA. Role of Chemokines and Chemokine Receptors in Rheumatoid Arthritis. *Immunotargets and Therapy*. 2020;9:43-56. DOI: <https://doi.org/10.2147/itt.s243636>

27. Clark SE, Burrack KS, Jameson SC, et al. NK Cell IL-10 Production Requires IL-15 and IL-10 Driven STAT3 Activation. *Frontiers in Immunology*. 2019;10:2087. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02087>

28. Asghar A, Chohan TA, Khurshid U, et al. A systematic review on understanding the mechanistic pathways and clinical aspects of natural CDK inhibitors on cancer progression.: Unlocking cellular and biochemical mechanisms. *Chemico-biological Interactions*. 2024;393:110940. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2024.110940>

29. Zhi L, Zhang Z, Gao Q, et al. CAR-NK cells with dual targeting of PD-L1 and MICA/B in lung cancer tumor models. *BMC Cancer*. 2025;25(1):337. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12885-025-13780-2>

30. Yi E, Lee E, Park HJ, et al. A chimeric antigen receptor tailored to integrate complementary activation signals potentiates the antitumor activity of NK cells. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*. 2025;44(1):86. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13046-025-03351-5>

31. Xing S, Ferrari de Andrade L. NKG2D and MICA/B shedding: a 'tag game' between NK cells and malignant cells. *Clinical and Translational Immunology*. 2020;9(12):e1230. DOI: <https://doi.org/10.1002/cti2.1230>

32. Kim S, Kwak JE, Koh JY, et al. NKG2D-mediated cytotoxicity of CD4 cytotoxic T cells in multiple myeloma. *Blood*. 2025;146(4):456-470. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood.2024025875>

33. Chiossone L, Vacca P, Orecchia P, et al. In vivo generation of decidual natural killer cells from resident hematopoietic progenitors. *Haematologica*. 2014;99(3):448-457. DOI: <https://doi.org/10.3324/haematol.2013.091421>

34. Keskin DB, Allan DS, Rybalov B, et al. TGFbeta promotes conversion of CD16+ peripheral blood NK cells into CD16- NK cells with similarities to decidual NK cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2007;104(9):3378-3383. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0611098104>

35. Grebenkina PV, Mikhailova VA, Bepalova ON, et al. Regulation of the cytokine profile of NK cells by the microenvironment factors typical for pregnancy. *Medical Immunology*. 2025;27(2):445-450. Russian. DOI: <https://doi.org/10.15789/1563-0625-ROT-3061>

36. Wang Z, Guan D, Huo J, et al. IL-10 Enhances Human Natural Killer Cell Effector Functions via Metabolic Reprogramming Regulated by mTORC1 Signaling. *Frontiers in Immunology*. 2021;12:619195. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.619195>

37. Johannessen L, Sundberg TB, O'Connell DJ, et al. Small-molecule studies identify CDK8 as a regulator of IL-10 in myeloid cells. *Nature Chemical Biology*. 2017;13(10):1102-1108. DOI: <https://doi.org/10.1038/nchembio.2458>

38. Génin P, Algarté M, Roof P, et al. Regulation of RANTES chemokine gene expression requires cooperativity between NF-kappa B and IFN-regulatory factor transcription factors. *Journal of Immunology*. 2000;164(10):5352-5361. DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.164.10.5352>

39. Chen M, Liang J, Ji H, et al. CDK8/19 Mediator kinases potentiate induction of transcription by NFkappaB. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2017;114(38):10208-10213. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1710467114>

Статья поступила в редакцию 21 апреля 2025 г.  
Поступила после доработки 9 августа 2025 г.  
Принята к печати 11 сентября 2025 г.

Received 21 April 2025

Revised 9 August 2025

Accepted 11 September 2025

#### Информация об авторах

**Полина Владимировна Гребенкина**, младший научный сотрудник лаборатории межклеточных взаимодействий, отдел иммунологии и межклеточных взаимодействий ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии

имени Д.О. Отта», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, E-mail: [grebekina@gmail.com](mailto:grebekina@gmail.com), ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5229-9732>.

**Елизавета Владимировна Тыщук**, младший научный сотрудник лаборатории межклеточных взаимодействий, отдел иммунологии и межклеточных взаимодействий ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, E-mail: [tyshhuk.elizaveta@gmail.com](mailto:tyshhuk.elizaveta@gmail.com), ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6051-9048>.

**Оксана Богдановна Марко**, младший научный сотрудник лаборатории межклеточных взаимодействий, отдел иммунологии и межклеточных взаимодействий ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, E-mail: [okmarko@ya.ru](mailto:okmarko@ya.ru), ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6078-1791>.

**Елизавета Алексеевна Денисова**, младший научный сотрудник лаборатории межклеточных взаимодействий, отдел иммунологии и межклеточных взаимодействий ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, E-mail: [liza.denisova9898@yandex.ru](mailto:liza.denisova9898@yandex.ru), ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3034-8262>.

**Марина Алексеевна Перевязкина**, младший научный сотрудник лаборатории межклеточных взаимодействий, отдел иммунологии и межклеточных взаимодействий ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, E-mail: [marinaperev17@mail.ru](mailto:marinaperev17@mail.ru), ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6976-7061>.

**Валентина Анатольевна Михайлова**, доктор биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории межклеточных взаимодействий, отдел иммунологии и межклеточных взаимодействий ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, E-mail: [mva\\_spb@mail.ru](mailto:mva_spb@mail.ru), ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1328-8157>.

**Игорь Юрьевич Коган**, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор института ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, E-mail: iagmail@ott.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7351-6900>.

**Дмитрий Игоревич Соколов**, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией межклеточных взаимодействий, отдел иммунологии и межклеточных взаимодействий ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, E-mail: falcojugger@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5749-2531>.

#### Information about the authors

**Polina V. Grebenkina**, Junior Researcher at the Laboratory of Intercellular Interactions, Department of Immunology and Intercellular Interactions, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, St. Petersburg, Russia, E-mail: grebenkinap@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5229-9732>.

**Elizaveta V. Tyshchuk**, Junior Researcher at the Laboratory of Intercellular Interactions, Department of Immunology and Intercellular Interactions, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, St. Petersburg, Russia, E-mail: tyshhuk.elizaveta@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6051-9048>.

**Oksana B. Marko**, Junior Researcher at the Laboratory of Intercellular Interactions, Department of Immunology and Intercellular Interactions, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology,

St. Petersburg, Russia, E-mail: okmarko@ya.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6078-1791>.

**Elizaveta A. Denisova**, Junior Researcher at the Laboratory of Intercellular Interactions, Department of Immunology and Intercellular Interactions, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, St. Petersburg, Russia, E-mail: liza.denisova9898@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3034-8262>.

**Marina A. Perevyazkina**, Junior Researcher at the Laboratory of Intercellular Interactions, Department of Immunology and Intercellular Interactions, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, St. Petersburg, Russia, E-mail: marinaperev17@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6976-7061>.

**Valentina A. Mikhailova**, Doct. Sci. (Biology), Senior Researcher at the Laboratory of Intercellular Interactions, Department of Immunology and Intercellular Interactions, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, St. Petersburg, Russia, E-mail: mva\_spb@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1328-8157>.

**Igor Y. Kogan**, Doct. Sci. (Medicine), Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Director of the Institute, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, St. Petersburg, Russia, E-mail: iagmail@ott.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7351-6900>.

**Dmitry I. Sokolov**, Doct. Sci. (Biology), Professor, Head of the Laboratory of Intercellular Interactions, Department of Immunology and Intercellular Interactions, D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology, St. Petersburg, Russia, E-mail: falcojugger@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5749-2531>.