

П.С.Гуревич



**Иммунопатология зародышевого,
эмбрионального и раннего
фетального периодов человека**

Аллогенные конфликты

Израиль

Иммунопатология зародышевого, эмбрионального и раннего фетального периодов человека. Аллогенные конфликты. (182 с)

Автор: Гуревич П.С. – доктор медицинских наук, профессор

Книга посвящена состоянию эмбрионов и ранних плодов при таких заболеваниях как аллогенные конфликты, гемолитическая болезнь эмбрионов и новорожденных, сепсис, врожденная цитомегалия и других. Исследования сосредоточены на иммунной защите эмбрионов. Особое внимание уделено состоянию и функции таких иммунных факторов как мононуклеарные фагоциты, вневорсинчатый трофобласт и другие структуры плаценты (ее материнская и эмбриональная части) и самого эмбриона, функционированию секреторной иммунной системы и системы индивидуальной иммунной защиты жизненно важных органов и клеток. Состояние иммунной защиты зародышей рассматривается в нормальных и патологических условиях.

Автор благодарит:

А.Россельса PhD, MD, Е.Гуревича PhD, MD и С.Гершон PhD, MD за помощь и поддержку в работе над книгой.

© Иммунопатология зародышевого, эмбрионального и раннего фетального периодов человека. Аллогенные конфликты. Гуревич П.С. Израиль, 2011

Immunopathology of germinal, embryonic and early fetal periods of human

Allogenic conflicts

P.S.Gurevich

Dear colleagues!

In these book materials of researches of reproductive pathology and immunology – formations of immune systems in pre-embryonic, embryonic and fetal periods are stated. The vigorous activity mononuclear phagocytes (monocytes and pro-monocytes) and various kinds trophoblast, especially an invasive trophoblast, and also a role of the pregnant woman in germ protection has been established. The secretory immune system of a germ functions very much early. Then on its basis образуются individual immune system of protection of the vital cages and bodies of embryos and the fetus, revealed by us. It is shown in process of formation, accumulating antibodies in neurons a brain, in cages endocrinal glands, in a myocardium, a liver and gonads. Then, in the beginning the fetal period appear immunocompetence cages and lymphoid bodies of the fetus, the general immune system comes into effect. Problems of repeated early abortions are not resolved yet. Their important part makes the early allogenic conflict between the pregnant woman and its embryo which to some extent is for it alien. We investigated changes of a placental barrier, an embryo and a fetus at allogenic conflicts of early pregnancy, fetus and newborns. The reasons of early intrauterine growth retardation (IUGR) which is connected not so much with antiphospholipid Hughes-syndrome, and mainly with a number of others pathogens are established. It is developed a pathomorphology of allogenic conflicts. We hope that these workings out will promote deeper understanding of mechanisms pre-embryonic, embryonic and fetal diseases and to creation of methods of their clinical diagnostics and prevention.

Introduction

One of intriguing problems of modern obstetrics is ability of a germ to avoid immune tearing away (Sargent I.L. et al., 2006). After all it which has received half of the genes from the father, for the pregnant woman is semiallogenic or completely allogenic for the substitute pregnant woman. And still for a germ and the pregnant woman in a large part of cases pregnancy comes to the end safely, and in others – there are complications for mother and a destruction of a germ. According to some information such cases far are not rare: opinions are expressed that 20-40 percent of fertilizations come to the end with destruction in the first weeks (Kutteh W.H., 1999; Kulakov V.I., et al., 2003; Adolfsson A., Larsson P.G., 2006). Insufficiency of our knowledge is shown that the reasons of the early spontaneous termination of pregnancy (in the first 8 weeks) in 50 % of cases remain unknown persons (Sargent I.L., 1993). Representation about the immune privilege of a uterine, and also a brain and eyes (Streilein J.W., Wegmann T.G., 1987; Niedekorn J.Y., Wang S.S., 2005) recognizes that in a uterine there are special mechanisms which suppress tearing away reaction. As the basis for opinion on privileges experiments on pregnant animals serve: if to replace parts of tissue of a fetus from a uterine in other tissue of the same animal immune reaction which tears away the replaced tissue develops. Some decrease in the general immune reactance of the pregnant woman proves to be true clinical supervision. At pregnant women are revealed such immunoinhibitors as a progesterone (Piccini M.P. et al., 1995), prostaglandin E₂ (Abe N., et al., 1997), the factor of early pregnancy (Morton H, 1998), and also change of balance Th1\Th2 cytokines (Dealtry G.B. et al., 2000). However, in understanding of the immune privilege of a uterine there are a number of contradictions. One of them – the mentioned experiments on changes a part of tissue an animal germ in a tissue of his mother. At similar change not only genes of covers of a germ, but all complex of its genes causes reaction of immune system of the pregnant woman. An example of a similar pathology is hemolytic disease of a fetus and the newborn (hemolytic disease of the fetuses and newborns – HDFN). While the Rhesus-factor erythrocyte antigen fetus is isolated from contact with maternal immune system pregnancy develops normally. But, as soon as (more often at the time of delivery) erythrocytes of fetus contacts with immunocompetence cages of mother – arises the allogenic conflict. The question on mechanisms of immune protection of an embryo remains opened, and the opinion about “immunoincompetence” not only an embryo, but also a fetus still met in the recent past (Vetro S.W., Bellanti J.A., 1989). And, apparently, it is possible to speak about what immune protection at absence in the embryonic period lymphoid bodies and immunocompetence cages. Last years the attention to reproduction immunology – to studying of growth and development of a germ of the human at the earliest stages, immune self-defense and methods of struggle with pathogens, about preservation of its gene pool has considerably increased. We are engaged in pathology research the fetal period and a condition lymphatic systems at such diseases as HDFN, a sepsis of fetus, congenital cytomegalia and others. Last years we have concentrated on research of immune protection of embryos. We especially interested a condition and functions mononuclear phagocytes, extravillous trophoblast and other structures of a placenta (parent and fetal parts) and an embryo, functioning secretory immune system and system of individual immune protection of vitals and cages. Conditions of immune protection of germs were considered in normal conditions, at tissue curling on villous, at bacterial infections and the allogenic conflict of the pregnant woman and its germ. Modern knowledge in the field of diagnostics, pathologies, and thereby – preventive maintenance and treatment of infringements of pregnancy of 1st trimester remains in many respects

not clear. It concerns to intrauterine growth retardation (IUGR), antiphospholipid Hughes-syndrome, to the allogenic conflict between the pregnant woman and fetus, to some bacterial infections of patrimonial ways. Such pathological processes as occurrence avascular edematous chorion villous, mass apoptosis of a placental barrier tissue and the embryo, very far from their physiological character are not clear. We hope to bring some clearness in these problems.

Оглавление

Уважаемые коллеги!	1
Введение	2
Глава 1. Организация и функции иммунных систем	4
1.1. Неспецифическая защита	4
1.2. Специфические иммунные реакции	4
1.2.1. Клеточные общие иммунные реакции	5
1.2.2. Гуморальные общие иммунные реакции	5
1.2.3. Секреторная иммунная система слизистых	6
1.2.4. Секреторная барьерная иммунная система	8
1.2.5. Система индивидуальной иммунной защиты жизненно важных клеток и органов	9
1.3. Защита генитальных трактов и гонад взрослых	9
1.3.1. Защита женского генитального тракта и яичников	9
1.3.2. Защита мужских генитальных трактов и яичек	11
Глава 2. Процесс оплодотворения и развитие презембриона.	
Формирование секреторной иммунной системы эмбриона и плода	12
2.1. Оплодотворение	12
2.2. Постфертилизационные процессы	13
2.3. Защита зародыша в постфертилизационном периоде	14
2.4. Формирование секреторной иммунной системы эмбриона и плода	15
2.4.1. Барьерный вариант секреторной иммунной системы	17
2.5. Заключение	18
Глава 3. Формирование индивидуальной иммунной защиты жизненно важных клеток и органов эмбрионов и плодов человека	19
3.1. Развитие секреторной иммунной системы и ее превращения	19
3.2. Защита развивающегося мозга	19
3.2.1. Неиммунные механизмы защиты мозга	19
3.2.2. Секреторная и другие иммунные системы мозга эмбрионов и плодов	20
3.3. Защита эндокринных желез	22
3.3.1. Гипофиз	24
3.3.2. Щитовидная железа	24
3.3.3. Паращитовидные железы	27
3.3.4. Островки поджелудочной железы	27
3.3.5. Надпочечники	29
3.3.6. Три иммунные системы в эндокринных железах	29
3.4. Иммунная защита миокарда эмбрионов и плодов	30
3.5. Иммунная защита желчных протоков и гепатоцитов	33
3.6. Защита развивающихся половых трактов, гонад и гамет	33
3.6.1. Формирование иммунных систем половых органов	33
3.6.2. Формирование иммунной защиты женских гамет	34
3.6.3. Формирование иммунной защиты мужских гамет	34

3.6.4. Иммунная реакция гонад на инфекции	37
3.7. Индивидуальная иммунная система защиты жизненно важных клеток и органов	37
Глава 4. Патология плацентарного барьера при раннем аборте	40
4.1. Плацентарный барьер	40
4.2. Материалы и методы исследования	42
4.2.1. Материалы	42
4.2.2. Методики	43
4.2.3. Морфометрические методы	44
4.3. Группа 1, контрольная. Плацентарный барьер без бактериальных и аллогенных повреждений	45
4.3.1. Ворсины хориона	45
4.3.2. Плацента беременной	52
4.3.3. Заключение по группе 1	54
4.4. Группа 2. Нарушение плацентарного барьера вследствие отложения фибрина на ворсинах эмбриона	56
4.4.1. Ворсины хориона	57
4.4.2. Плацента беременной	57
4.4.3. Заключение по группе 2	58
4.5. Группа 3А. Восходящая инфекция родовых путей, распространяющаяся через хорион и амнион в обход плацентарного барьера	59
4.5.1. Ворсины хориона	59
4.5.2. Плацента беременной	64
4.5.3. Заключение по группе 3А	66
4.6. Группа 3В. Восходящая инфекция родовых путей с гематогенным распространением	66
4.6.1. Ворсины хориона	69
4.6.2. Плацента беременной	69
4.6.3. Заключение по группе 3В	70
4.7. Группа 4. Аллогенный конфликт беременной и эмбриона	71
4.7.1. Ворсины хориона	71
4.7.2. Плацента беременной	76
4.7.3. Заключение по группе 4	78
4.8. Заключение по главе 4	84
Глава 5. Состояние эмбрионов и плодов при раннем аборте.	
Аллогенный конфликт	85
5.1. Ранние спонтанные аборт	85
5.2. Апоптоз физиологический и патологический при ранних абортах	86
5.3. Транспорт иммуноглобулинов к эмбриону	89
5.4. Цели, материалы и методы исследования	93
5.4.1. Материалы исследования	93
5.4.2. Методы исследования	94
5.5. Группа 1, контрольная.	
Нормальное состояние эмбрионов и ранних плодов	94
5.5.1. Секреторная иммунная система	95
5.5.2. Моноциты эмбрионов	95
5.5.3. Общая иммунная система	98

5.5.4 Процесс пролиферации в формировании органов эмбрионов	99
5.5.5. Апоптоз	99
5.5.6. Заключение по группе 1	100
5.6. Группа 3А. Эмбрионы и ранние плоды при острой восходящей инфекции родовых путей с поражением хориона и амниона	100
5.6.1. Патологические изменения эмбрионов	102
5.6.2. Патологические изменения плодов	103
5.6.3. Заключение по группе 3А	103
5.7. Группа 3В. Восходящая инфекция родовых путей с гематогенным распространением	104
5.7.1. Патологические изменения эмбрионов и плодов	104
5.7.2. Заключение по группе 3В	106
5.8. Группа 4. Ранний аллогенный конфликт беременной и эмбриона	108
5.8.1. Действие патогенов, апоптоз	108
5.8.2. Состояние эмбрионов	108
5.8.3. Множественный апоптоз клеток органов эмбрионов	109
5.8.4. Умеренный апоптоз клеток органов эмбрионов	114
5.8.5. Заключение по группе 4	117
5.9. Заключение по главе 5	121
Глава 6. Механизмы иммунной защиты презембрионального и эмбрионального периодов	124
Заключение	129
Глава 7. Поздний аллогенный конфликт – гемолитическая болезнь плода и новорожденного	131
7.1. Краткая история изучения ГБПН	131
7.2. Эпидемиология	132
7.3. Резус-антигенный конфликт: общие проблемы	133
7.3.1. Анамнез и течение беременности	133
7.3.2. Этапы развития ГБПН	134
7.3.3. Формы ГБПН	135
7.4. Патогенные агенты	138
7.5. Гемолитическая фетопатия с мацерацией	139
7.6. Анемическая форма ГБПН	139
7.7. Отечная форма ГБП	140
7.8. Желтушная форма ГБН	145
7.8.1. Желтушная форма ГБН врожденная (или с анемией)	145
7.8.2. Желтушная форма ГБН послеродовая (или без анемии)	146
7.8.3. Желтушная форма ГБН при конфликте по системе АВО	147
7.8.4. Заключение разделов 7.4 – 7.8.	
Особенности патологии различных форм ГБПН	148
7.9. Билирубиновая энцефалопатия при желтухах новорожденных и ГБН	150

7.9.1. Состояние мозга при желтухах новорожденных не связанных с ГБН	150
7.9.2. Поражение мозга эмбрионов при раннем аллогенном конфликте	151
7.9.3. Состояние мозга при ГБН Rh ^o D	152
7.9.4. Состояние мозга при ГБН, вызванной ABO несовместимостью	155
7.10. Заключение	157
Аббревиатура	161
Биологические и медицинские термины	163
Литература	167

Уважаемые коллеги!

В этой книге изложены материалы исследований репродуктивной патологии и иммунологии – формирования иммунных систем в презембриональном, эмбриональном и раннем фетальном периодах.

Была установлена активная деятельность мононуклеарных фагоцитов (моноцитов и промоноцитов) и различных видов трофобласта, особенно инвазивного трофобласта, а также роль беременной в защите зародыша. Секреторная иммунная система (СИС) зародыша функционирует очень рано. Затем на ее основе образуется индивидуальная иммунная система защиты жизненно важных клеток и органов эмбрионов и плодов, выявленная нами. Она проявляется по мере формирования органов, накапливая иммуноглобулины в нейронах мозга, в клетках эндокринных желез, в миокарде, печени и гонадах. В начале фетального периода размножаются иммунокомпетентные клетки и формируются лимфоидные органы самого плода, вступает в действие общая иммунная система.

Еще не разрешены проблемы повторных ранних аборт. Важную часть их составляет ранний аллогенный конфликт между беременной и ее эмбрионом, который в той или иной степени является для нее чужеродным. Мы исследовали изменения плацентарного барьера и эмбриона при аллогенных конфликтах ранней беременности, а также плодов и новорожденных при поздних аллогенных конфликтах. Установлены причины ранней задержки внутриутробного развития (IUGR), которая связана не с антифосфолипидным синдромом Hughes, а главным образом с рядом других патогенов. Разработана патоморфология аллогенных конфликтов.

Надеемся, что наши исследования будут способствовать более глубокому пониманию механизмов презембриональных, эмбриональных и фетальных заболеваний и созданию методов их клинической диагностики и предотвращения.

Введение

Одной из интригующих проблем современного акушерства является способность зародыша избежать иммунного отторжения (Sargent I.L. et al., 2006). Ведь он, получивший половину своих генов от отца, для беременной является наполовину чужеродным (semiallogenic) или полностью чужеродным (allogenic) для суррогатной беременной. И все же для зародыша и беременной в большей части случаев беременность завершается благополучно, а в других – возникают осложнения для матери и гибель зародыша. По некоторым данным такие случаи далеко не редки: высказаны мнения, что 20-40 процентов оплодотворений завершаются гибелью в первые недели (Kutteh W.H., 1999; Кулаков В.И. и др., 2005; Adolfsson A., Larsson P.G., 2006). Недостаточность наших знаний проявляется в том, что причины раннего спонтанного прекращения беременности (в первые 8 недель) в 50% случаев остаются неизвестными (Sargent I.L., 1993).

Представление об иммунной привилегии матки, а также мозга и глаз (Streilein J.W., Wegmann T.G., 1987; Niederkorn J.Y., Wang S.S., 2005) исходит из предположения, что в матке имеются особые механизмы, которые подавляют реакцию отторжения. Основанием для мнения о привилегиях служат эксперименты на беременных животных: если пересадить части тканей плода из матки в другие ткани этого же животного, то развивается иммунная реакция, которая отторгает пересаженные ткани. Некоторое снижение общей иммунной реактивности беременной подтверждается клиническими наблюдениями. У беременных выявлены такие иммуноподавляющие вещества как прогестерон (Piccini M.P. et al., 1995), простагландин E2 (Abe N., et al., 1997), фактор ранней беременности (Morton H., 1998), а также изменение баланса Th1\Th2 цитокины (Dealtry G.B. et al., 2000).

Однако, в понимании иммунной привилегии матки есть ряд противоречий. Одно из них – упомянутые эксперименты по пересадке части тканей зародыша животного в ткани его матери. При подобной пересадке не только гены оболочек зародыша, но весь комплекс его генов вызывает реакцию иммунной системы беременной. Примером подобной патологии является гемолитическая болезнь плода и новорожденного (ГБПН). Пока резус-фактор (антиген эритроцитов плода) изолирован от контакта с материнской иммунной системой, беременность развивается нормально. Но, как только (чаще во время родов) эритроциты плода контактируют с иммунокомпетентными клетками матери – возникает аллогенный конфликт.

Вопрос о механизмах иммунной защиты эмбриона остается открытым, и мнение об «иммунонекомпетентности» не только эмбриона, но и плода еще встречалось в недавнем прошлом (Vetro S.W., Bellanti G.A., 1989). И, казалось бы, о какой иммунной защите можно говорить при отсутствии в эмбриональном периоде лимфоидных органов и иммунокомпетентных клеток.

В последние годы значительно возросло внимание к иммунологии репродукции – изучению роста и развития зародыша человека на самых ранних этапах его иммунной самозащиты и методах борьбы с патогенами, о сохранении его генофонда.

Мы занимаемся исследованием патологии фетального периода и состояния лимфоидной системы при таких заболеваниях как ГБПН, сепсис у плодов, врожденная цитомегалия и других. В последние годы мы сосредоточились на исследовании иммунной защиты эмбрионов. Нас особенно интересовали состояние

и функции мононуклеарных фагоцитов, вневорсинчатого трофобласта и других структур плаценты (ее материнская и эмбриональная части) и самого эмбриона, функционирование секреторной иммунной системы (СИС) и системы индивидуальной иммунной защиты жизненно важных органов и клеток. Состояние иммунной защиты зародышей рассматривались в нормальных условиях, при свертывании фибрина на ворсинах, при бактериальных инфекциях и аллогенном конфликте беременной и ее зародыша.

Современные проблемы в области диагностики, патологии, а тем самым – профилактики и лечения нарушений беременности 1-го триместра остаются во многом неясными. Это относится к задержке внутриматочного развития (IUGR), антифосфолипидному синдрому Hughes, аллогенному конфликту между беременной и ее плодом, некоторым бактериальным инфекциям родовых путей. Неясны такие патологические процессы как появление аваскулярных отечных ворсин хориона, множественный апоптоз тканей плацентарного барьера и самого эмбриона, очень далеких от физиологического характера их. Мы надеемся внести некоторую ясность в эти проблемы.

Автор приносит благодарность профессору М.И.Молдавскому за предоставление некоторых препаратов плодов.

Глава 1. Организация и функции иммунных систем

Иммунитет – это комплекс механизмов защиты организма от патогенов – микроорганизмов, паразитов, чужих антигенов и других вредных веществ. В этой главе приводится краткое изложение данных, которые потребуются нам в дальнейшем.

1.1. Неспецифическая защита

Кроме иммунных реакций в организме имеются разные неспецифические методы защиты. Это пищеварительные ферменты, кислотность желудочного сока, желчные кислоты и другие факторы, создающие неблагоприятные условия для развития микроорганизмов. Определенное значение по удалению мелких посторонних веществ, а также микроорганизмов имеют микроворсинки эпителия, своими колебаниями передвигающие их к выходу вместе со слизью, например в дыхательных и женских половых путях. Белковые и другие биологически активные вещества, такие как комплекс комплемента, интерлейкины, интерфероны и другие участвуют в регуляции иммунокомпетентных клеток. Большое внимание уделяется комплексу веществ, вызывающих апоптоз – разрушение ненужных или вредных клеток.

Клеточная неспецифическая защита осуществляется клетками, способными к фагоцитозу. Это гранулоциты (в основном нейтрофилы) и мононуклеарные фагоциты (макрофаги, моноциты, промоноциты, гистиоциты, купферовские клетки печени, остеопласты, клетки Кашенко-Hofbauer* ворсин хориона, микроглия мозга и другие). Особенность неспецифической клеточной защиты – действие на ранних этапах патологических процессов, до развития специфических иммунных реакций.

1.2. Специфические иммунные реакции

Специфические иммунные реакции характерны тем, что их защитные действия направлены против конкретного патогена. Клетки, участвующие в специфическом иммунном ответе, различают нормальные ткани и молекулярные вещества своего организма и относятся к ним толерантно. Однако возможны ошибки, выражающиеся в аутоиммунных процессах.

*Кашенко Н.Ф. (1855-1935), киевский эмбриолог, описал плацентарные моноциты в 1885 г., а также ряд других деталей эмбриона. Hofbauer J.I.I. (1878-1961), американский гинеколог, исследовал плаценту, описал в строении ворсин клетки-фагоциты. Эти фагоциты относятся к моноцитам.

Все виды специфических иммунных ответов осуществляются с участием разных иммунокомпетентных клеток. Они располагаются в костном мозге, в лимфоидных органах – тимусе, селезенке, лимфоузлах, миндалинах, пейеровых (Peyer) бляшках кишечника, а также по всему организму в виде фолликулов (группы разных иммунокомпетентных клеток) или передвигающихся поодиночке с кровью,

лимфой и тканевой межклеточной жидкостью (рециркуляция). Так осуществляется общность иммунных реакций, возможность контакта с патогеном соответствующих антиген-специфических клеток в любом участке организма.

Выделяются следующие виды специфических иммунных систем:

1. общие иммунные реакции – клеточные и гуморальные;
2. секреторные иммунные реакции – секреторная иммунная система (СИС) слизистых и барьерная СИС;
3. индивидуальная защита жизненно важных клеток и органов.

1.2.1. Клеточные общие иммунные реакции

В этих реакциях участвует комплекс иммунокомпетентных клеток. В их числе выделяют антиген-представляющие клетки, которые распознают присутствие чужих антигенов. При первичном контакте это мононуклеарные фагоциты. Их наиболее употребляемый иммуногистохимический маркер CD68. При повторном появлении того же антигена его представляют Т-лимфоциты памяти, длительно сохраняющиеся в организме, иногда всю жизнь человека-носителя. Они вызывают иммунную реакцию гораздо быстрее, чем мононуклеарные фагоциты при первичном воздействии. Непосредственно участвует в клеточном ответе группа Т-лимфоцитов, их общий маркер CD3. Каждый вид Т-лимфоцитов выполняет свои функции: хелперы осуществляют регуляцию иммунного ответа (их маркер CD4). Саму иммунную реакцию выполняют цитотоксические (супрессорные) лимфоциты (CD8) и натуральные киллеры (NK, маркер CD56).

Клеточная иммунная реакция происходит в ответ на чужие ткани, содержащие главный комплекс гистосовместимости (МНС) класса 1 (HLA-A, HLA-B, HLA-C). Комплекс молекул МНС уникален для каждого организма и определяет его биологическую индивидуальность. При трансплантации чужих тканей, несовместимых по МНС класса 1, первичная реакция осуществляется в два этапа. Первый этап – сенсibilизация – длится 7-11 дней от первичного контакта с антигеном. За это время образуется большое количество цитотоксических Т-лимфоцитов и натуральных киллеров. На втором этапе – отторжении – эти лимфоциты, а также фагоциты, проникают в ткань, вызвавшую сенсibilизацию, обильно инфильтрируют ее сосуды, ткань некротизируется и отторгается. Важную роль в Т-клеточном иммунном ответе играют интерлейкины (маркер рецептора одного из них IL-2R α chain CD25). Они активируют цитотоксические Т-лимфоциты и NK, в меньшей степени – В-лимфоциты и мононуклеарные фагоциты.

1.2.2. Гуморальные общие иммунные реакции

Гуморальные иммунные реакции происходят при появлении чужих антигенов МНС класса II (HLA-D, HLA-DP, HLA-DQ, HLA-DR и HLA-G) или других несовместимых антигенов, например, таких как резус-антиген, вызывающий ГБПН (Gurevich P.S. et al., 1997).

В гуморальных иммунных реакциях участвует группа клеток с разными функциями. Это антиген-представляющие мононуклеарные фагоциты – при первом контакте с патогеном, или В-лимфоциты памяти – при повторных контактах. Осуществляют иммунную реакцию В-лимфоциты (маркеры CD20+ и CD79A+) и их потомки – плазматические клетки (CD20-, CD79A+). Участвуют в регуляции иммунного ответа Т-хелперы и цитокины.

После первичного контакта мононуклеарных фагоцитов с чужим антигеном они передают информацию о нем В-лимфоцитам, которые начинают размножаться (период сенсibilизации). Примерно через 7 дней в крови появляются антиген-

специфические антитела – иммуноглобулины М (IgM), а через две недели большое количество антител IgG и IgA.

Активация В-лимфоцитов и превращение их в плазматические клетки сопровождается изменением маркера: CD20 утрачивается, но сохраняются CD79A. Синтез антител происходит повсюду – в лимфоидных органах: селезенке, лимфатических узлах и фолликулах, а также В-лимфоцитами и плазматическими клетками, рассеянными по всему организму. Но сами клетки в иммунной реакции непосредственно не участвуют, как это происходит при клеточных иммунных реакциях. Иммуноглобулины разносятся кровью, лимфой, межклеточной жидкостью, контактируют со специфическими для себя антигенами и разрушают их, если это молекулы, а если клетки – то вызывают некроз или апоптоз.

При повторном контакте с антигеном иммунная реакция развивается гораздо быстрее – за 3-4 дня.

1.2.3. Секреторная иммунная система слизистых

Основной функцией СИС является иммунная защита органов, контактирующих с внешней средой и от находящихся в них микроорганизмов и других патогенов (Brandtzaeg P., 1995; Goldblum R.M., et.al. 1996; McGhee J.R., Kiyono H., 1999). СИС располагается в эпителии слизистых оболочек и сопровождающих их желез: поэтому применяется также наименование: иммунная система слизистой. Она охватывает: пищеварительную систему от полости рта со слюнными железами, пищевод, желудок, кишечник (кроме бокаловидных клеток), ацинусы и каналцы поджелудочной железы (кроме ее островков), желчные каналцы печени, внепеченочные желчные каналцы, желчный пузырь; дыхательную систему от полости носа до мелких бронхов; мочевыделительную систему от каналцев почек – собирательные трубки, лоханки, мочеточники, мочевой пузырь; мужские и женские половые органы; слезные железы и конъюнктивы глаз, молочные железы и другие.

Значимость СИС для сохранения организма чрезвычайно велика, так как общая площадь внутренней поверхности некоторых организмов и, следовательно, контакт с патогенами очень велик. Например, поверхность слизистой пищеварительного тракта составляет сотни квадратных метров. Всех «сожителей» (symbiotic) микрофлоры и «совместно питающихся» (commensals) приходится постоянно удерживать. Стерильность некоторых органов, например альвеол легких, молочных желез и других, достигается рядом сложных механизмов, в числе которых СИС играет важную роль.

В СИС выделяют два этапа. Первый выполняет комплекс клеток, распознающих чужие антигены и синтезирующих иммуноглобулины. Это мононуклеарные фагоциты, В-лимфоциты и плазматические клетки, аналогичные входящим в состав гуморальной общей иммунной системы. Располагаются они главным образом в слизистой и подслизистой полых органов: в пищеварительном тракте – в бляшках Peyer, аппендиксе, в регионарных лимфоузлах и лимфоидных фолликулах, в миндалинах глотки. Близкий контакт лимфоидных органов и патогенов позволяет начать синтез иммуноглобулинов раньше, чем это происходит в общей иммунной системе. Это отметил А.М.Безредка (Besredka A., 1919): при экспериментальном введении патогенов с пищей антитела в содержимом кишечника появляются раньше, чем в крови.

На втором этапе СИС транспортирует иммуноглобулины из межклеточных пространств через эпителий слизистой в просвет полого органа. В транспорте

выделяют три функции. Первая – захват иммуноглобулинов рецептором на базально-латеральной поверхности эпителия (эндоцитоз или интернализация), вторая – проведение иммуноглобулинов через цитоплазму эпителия (транскитоз) и третья – выделение их на апикальной поверхности эпителия (экзоцитоз). Здесь в просвете полого органа иммуноглобулины нейтрализуют или разрушают патогены (Brandtzaeg P., 1995; 1996; Brandtzaeg P., et al., 1997; Goldblum R.M., et al., 1996; McGhee J.R., Kiyono H., 1999).

Этот транспорт осуществляется двумя рецепторами: полииммуноглобулиновый рецептор (pIgR, его часть – секреторный компонент SC) и joining (соединяющая) J-цепь. Транспортируются у взрослых главным образом IgA, в меньшей степени IgG и IgM (Johansen F.E., et al., 2000, 2001).

SC-гликопротеин выявлен только у позвоночных, особенно - у млекопитающих (Peppard J.V., Russell M.W., 1999). Считается, что он выполняет все три этапа транспорта иммуноглобулинов через эпителий (Brandtzaeg P., 1996; Brandtzaeg P., et al., 1997). SC очень рано обнаруживается у эмбрионов и плодов человека в органах эктодермального, эндотермального и некоторые – мезодермального происхождения, а именно в трофобласте, амнионе, желточном мешке, в эпителии кожи, в нейробластах нервной трубки, хорде, в эпителии формирующихся пищеварительных, дыхательных и мочевыводящих органов, в мезотелии и образующихся из него органах (Gurevich et al., 2001 A, B, 2003 A, B, C.). Столь раннее и распространенное наличие SC в онтогенезе делает вероятным более раннее появление его в филогенезе.

J-цепь представляет собой мелкий (15 kDa) полипептид, обнаруженный еще у многих видов беспозвоночных, у которых нет ни иммуноглобулинов, ни лимфоцитов, причем ДНК J-цепи, например, у земляных червей и человека имеют высокую степень сходства (Takahashi et al., 1996). У человека J-цепь была обнаружена в Т-лимфоцитах костного мозга и тимуса, в В-лимфоцитах, синтезирующих IgG, IgD (Brandtzaeg P., 1996), IgA и IgM (Johansen F.E. et al., 2000). Основной функцией J-цепи считается соединение мономерных молекул иммуноглобулинов в полимерные путем связывания за Fc-фрагмент двух молекул IgA или пяти молекул IgM.

Механизмы транспорта иммуноглобулинов через эпителий слизистой и роль в этом процессе рецепторов SC и J-цепи еще не вполне ясны. Некоторые исследователи считают, что весь процесс транспорта иммуноглобулинов – эндоцитоз, транскитоз и экзоцитоз, выполняет SC. Есть и другие мнения: Simada S-I. et al., (1999) вывели штамм мышей, дефицитных по гену полимерного иммуноглобулинового рецептора (pIgR^{-/-}). При Western blot анализе и иммуногистохимическом анализе эпителия кишки pIgR (SC) не был обнаружен, но IgA в этом эпителии присутствовал. Отмечено также повышение уровня IgA в крови, а уровень его в желчи, содержимом кишечника и в кале был незначителен. Заключение: наличие IgA в эпителии кишечника при отсутствии pIgR(SC) показывает, что эндоцитоз в эпителий выполняет какой-то другой рецептор. Так как у pIgR^{-/-} мышей в желчи, содержимом кишки и кале уровень IgA резко понижен, а у здоровых мышей он нормален, то pIgR(SC) является ведущим рецептором в экзоцитозе.

Hendrickson B.A. et al. (1995) исследовали мышей, дефицитных по J-цепи (J-цепь^{-/-}). Уровень IgA в сыворотке у них был почти в 30 раз выше, чем у диких мышей J-цепь^{+/+}, а содержание J-цепи в желчи и кале значительно снижено. Эти выводы подтверждаются клиническими наблюдениями над людьми, больными IgA нефропатией. У них повышено содержание IgA в крови, и выделение их с мочой

вызывает поражение мезангия клубочков почек. Детальное обследование больных показало недостаточное содержание J-цепи в эпителии кишечника, ненормально малое содержание IgA в нем и в содержимом кишечника. Вывод: J-цепь выполняет эндоцитоз иммуноглобулинов в эпителий кишечника (Emansipator S.N. et al., 1999). Ультраструктурное исследование эпителия тонкой кишки человека выявило расположение J-цепи в базально-латеральной части клеток, но не в апикальных частях их, где располагается SC (Nagura N. et al., 1979). Наши исследования, приведенные в главах 3 и 5.4, подтверждают, что **у эмбрионов и плодов человека J-цепь производит эндоцитоз иммуноглобулинов, а SC выполняет экзоцитоз их из клеток.**

Описанный механизм экзоцитоза характерен для мерокриновой (эккриновой) секреции, которая происходит в нормальных условиях в эпителии слизистых оболочек, слюнных и слезных железах и других. При этом SC не выделяется из клетки вместе с иммуноглобулинами. Апокриновая секреция, при которой разрушается апикальная часть клетки, наблюдается в молочной железе. Поэтому SC отторгается вместе с иммуноглобулинами и отчасти – с J-цепью в колострум и в молоко. При голокриновой секреции разрушается вся клетка вместе с SC, J-цепью и иммуноглобулинами. Это происходит в слюнных железах, а при воспалительных процессах – в бронхиальном, желудочном, кишечном эпителии, в эпендиме и эпителии мозговых желудочков и других. Но мало вероятно, что в содержимом этих полостей будут положительны иммуноокраски SC, J-цепи и иммуноглобулины, так как они тоже будут разрушены (Norderhaug I.N. et al., 1999).

Еще одна функция СИС выявлена в серии экспериментов. В культуру эпителиальных клеток почек собак Madin-Darby, содержащих SC, вводили вирус Sendai или инфлюэнцы, а затем соответствующий антивирус IgA. В результате титр вируса в супернатантах уменьшался в 1000 раз, а в клеточных лизатах – в 10 раз. Мышам вводили вирус мышинного гепатита, а затем антивирус IgA, после чего мыши оставались живыми, вирус в гепатоцитах отсутствовал. Авторы (Mazanec M.B. et al., 1992; Nuang D.S. et al., 1996; North R.J., Convan J.W., 1998; Yan H. et al., 2002) подчеркивают, что в СИС, кроме иммунного воздействия на патогены в просвете полых органов, возможно также внутриклеточное действие антител.

Приведенные данные показывают, что главной функцией СИС является борьба с патогенами в органах, связанных с окружающей средой путем выделения иммуноглобулинов на поверхность этих органов. Поэтому SC является определяющим признаком наличия СИС.

1.2.4. Секреторная барьерная иммунная система

Этот вариант СИС, в отличие от СИС слизистых, не связан со слизистыми оболочками, но осуществляет транспорт иммуноглобулинов с участием тех же SC и J-цепи через барьеры. К ним относятся плацентарный барьер (транспорт разных веществ необходимых для эмбриона и плода от беременной и обратный транспорт отходов), гематоэнцефалический барьер (через эпендиму и сосудистые сплетения желудочков мозга в черепно-мозговую и спинномозговую жидкость), перивулярные оболочки (через фолликулярные клетки яичников к овоцитам) серозных полостей (брюшной, плевры, эпи- и перикарда) и другие. В основном, функции барьерных систем и их механизмы идентичны с СИС слизистых и могут считаться вариантами СИС. В то же время между ними имеются некоторые различия. В барьерных системах экскретируются в основном не IgA, как в СИС слизистых, а IgG и в меньшей степени IgA и IgM. Барьерная система иногда велика

– площадь плацентарного барьера при доношенной беременности составляет $11,0 \pm 1,3 \text{ м}^2$ (Aherne W., Dunnill M.S., 1966), велики также площади брюшины и плевры. Но чаще она встречается в малых образованиях, таких как фолликулярные клетки яичников или фолликулы щитовидной железы, и не может равняться с площадью СИС слизистой пищеварительного и других трактов. Имунокомпетентные клетки в барьерной системе немногочисленны и, видимо, она использует иммуноглобулины общей иммунной системы – из крови, лимфы или межклеточной жидкости.

Следует отличать барьерную СИС от большого разнообразия тканевых барьеров, не имеющих отношения к иммунным реакциям. Это аэрогематические барьеры легких, фильтрационный барьер первичной мочи в почках, перинеуральные барьеры, бикарбонатный барьер в слизистой желудка от переваривания его собственными ферментами и кислотой и другие.

1.2.5. Система индивидуальной иммунной защиты жизненно важных клеток и органов

Эта система направлена на защиту паренхиматозных клеток органов, имеющих решающее, стратегическое значение для жизни организма и сохранения рода, но не обладающих или обладающих в незначительной степени способностью к регенерации. Подробно она будет рассмотрена в главе 3.

1.3. Защита генитальных трактов и гонад взрослых

Защита гамет, благополучие будущих генераций начинается задолго до оплодотворения. Она включает кроме разных неспецифических процессов все три специфические иммунные системы – общую, охватывающую весь организм, секреторную, защищающую слизистые оболочки, внешнесекреторные железы и часть барьеров, а также систему индивидуальной иммунной защиты особо важных органов и клеток. Эти системы охватывают все половые органы женщин и мужчин.

1.3.1. Защита женского генитального тракта и яичников

Из неспецифических защитных механизмов в женском генитальном тракте кроме упомянутых (раздел 1.1) можно отметить заселение вагины палочками Doderlein – комменсалов, антагонистов патогенных бактерий.

Общая иммунная система в зоне женских гениталий представлена окружающими их лимфатическими узлами и разными иммунокомпетентными клетками, особенно Т-лимфоцитами – цитотоксическими супрессорами и натуральными киллерами в тканях маточных труб, матки и влагалища. Их количество значительно возрастает при менструальных циклах, в менопаузе, при беременности и инфекциях (Kurman R.J., 1995; White H.D., et al., 1997; Corbeil L.B. et al., 1998)

СИС представлена SC, J-цепью и IgA в эпителии маточных труб, матки, шейки матки и влагалища (Stern J.E. et al., 1992A; Brandtzaeg P., 1997; MasCasullo V. et al., 2005). На всем протяжении генитального тракта имеется умеренное количество В-лимфоцитов, содержащих в основном IgA и в меньшей степени IgG и IgM (Kutteh W.H., 1999).

Наши исследования показали, что в фолликулярных клетках яичников содержатся SC, J-цепь и иммуноглобулины, главным образом IgA. В окруженных ими яйцеклетках имеются J-цепь и иммуноглобулины. Это свидетельствует, что защита яйцеклеток осуществляется СИС и системой индивидуальной защиты (Рис.1.1.).

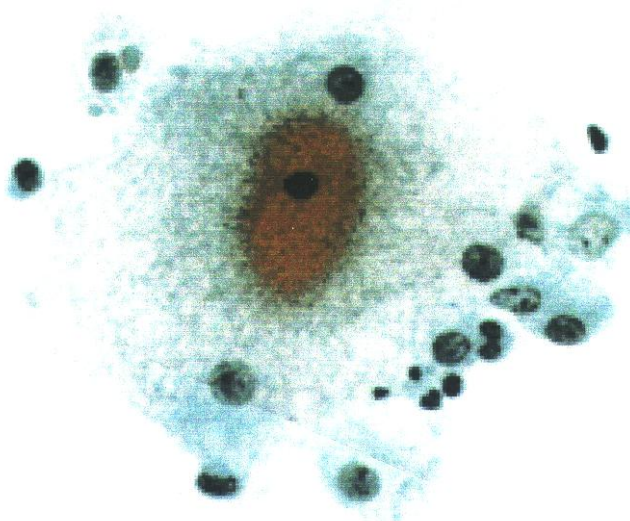


Рис 1.1. Овулировавшая яйцеклетка. В центре ее ядро. По периферии яйцеклетки располагаются фолликулярные клетки, затем лучистый венец (*corona radiata*). Они содержат комплекс различных ферментов, а также SC, J-цепь и иммуноглобулины (см. Рис.3.7.). После оплодотворения делящаяся яйцеклетка сохраняет клетки лучистого венца одну неделю (см. Рис.2.1. А, В), а затем они заменяются трофобластом. Все 5 видов его содержат комплекс СИС (см. Рис.4.1) (E.Greenenbaum, 1988).

Представления о защите женских гениталий в период беременности и, в частности, возможность ранних аллогенных абортов до сих пор не ясны. Продолжает сохраняться представление о гипотетических «привилегиях» в защите столь разных органов как беременная матка, передняя камера глаза и мозг. A.W.Ham и D.H.Cormack (1983) обсуждают эти привилегии для матки, что представляет определенный интерес. Они исходили из положения, что при аллогенной беременности отторжения эмбриона не происходит. Тем самым отвергается возможность аллогенного конфликта в III триместре – гемолитической болезни плода и новорожденного. Авторы рассматривают ряд теоретических возможностей иммунных привилегий беременной матки. Первая – отсутствие в клетках трофобласта каких-либо характерных антигенов отцовского происхождения, способных вызвать иммунный ответ. Эта возможность отвергается авторами: в трофобласте имеются несколько вариантов антигенов HLA-D и HLA-G. Вторая – отцовские антигены каким-то образом замаскированы и недоступны для распознавания, маскирующим фактором может быть слой фибриноида толщиной 0,1 – 2 мк на поверхности трофобласта. Тем самым эмбрион изолирует себя сам от враждебного окружения материнских клеток. Но инвазивный трофобласт находится в непосредственном контакте с клетками децидуальной ткани, фибриноида на его поверхности нет. Третья группа предположений включает образование матерью блокирующих антител, которые изолируют антигены на клетках эмбриона. В результате, либо происходит инактивация (паралич) материнской иммунной системы к отцовским антигенам, либо нарушается материнский иммунный ответ гормонами. A.W.Ham и D.H.Cormack (1983) считали маловероятным, чтобы одна из

перечисленных возможностей могла бы объяснить – почему беременность сохраняется без отторжения? Концепцию о привилегированности эндометрия в иммунном отношении авторы считали несостоятельной.

За последующие 30 лет вопросы об иммунной привилегии беременной матки, о возможности раннего аллогенного конфликта с повторными абортами в I триместре и о характере аллогенного конфликта (если он возможен) – клеточной или гуморальной иммунной реакции – еще не решены.

1.3.2. Защита мужских генитальных трактов и яичек

Интерлейкины и другие виды цитокинов регулируют разные этапы клеточной дифференцировки и в том числе клеток Leydig и Sertoli, которые участвуют в развитии сперматозоидов (Huleihel M., Lunenfeld E., 2004).

Общая иммунная система в мужских гениталиях на всем протяжении от сети яичек до семенных пузырьков представлена Т-лимфоцитами: супрессорами (CD8) и хелперами (CD4), а также макрофагами. Они располагаются в небольшом количестве между эпителием слизистой и базальной мембраной. В-лимфоциты и плазматические клетки единичны или местами отсутствуют. В простате и уретре, в которых объединяются мочевыводящий и половой каналы, количество лимфоцитов и макрофагов значительно увеличивается, клетки располагаются группами. Следует учитывать также лимфоузлы паховые и малого таза, относящиеся к общей иммунной системе.

СИС охватывает все участки полового канала – от сети яичек до уретры включительно (Mestecky J., Fultz P.N., 1999). Плазматические клетки и В-лимфоциты, содержащие IgA, и единичные IgG и IgM располагаются под эпителием. SC, J-цепь и иммуноглобулины выявляются в эпителии на всем протяжении канальцев от сети яичек (Stern J.E. et al., 1992B; Mestecky J. et al., 2005). Системы защиты сперматозоидов в семенных канальцах – большие группы клеток Leydig и клеток Sertoli (см.3.6.3).

Глава 2. Процесс оплодотворения и развитие преэмбриона. Формирование секреторной иммунной системы эмбриона и плода

2.1. Оплодотворение

Объединение зрелой яйцеклетки (ovum) и сперматозоида является биологическим событием, в результате которого образуется новый организм. Какие-либо вмешательства в этот процесс могут привести к нарушению генома, образованию пороков развития или гибели зародыша. Поэтому сохранение генофонда будущего человека требует защиты с самого начала его образования.

Оплодотворению – слиянию двух комплектов ДНК – предшествует серия процессов. Яйцеклетка выделяет гамоны – они активизируют движение сперматозоидов к ней. Со своей стороны, сперматозоиды выделяют свою серию гамонов – они подавляют активность других сперматозоидов, а у себя стимулируют необходимость пройти три препятствия. Первое – рыхлый слой фолликулярных клеток (corona radiata). Затем идет прозрачная оболочка (zona pellucida), через которую к яйцеклетке подходит большое количество отростков фолликулярных клеток, выполняющих обмен веществ яйцеклетки. Завершает путь сперматозоида оболочка яйцеклетки. Наиболее существенным барьером на пути сперматозоида является zona pellucida. Подходя к ней, сперматозоид слабо прикрепляется своими рецепторами и с помощью яйцеклетки совершает акросомную реакцию. При этом из оболочки головки сперматозоида выделяется комплекс ферментов в zona pellucida и на небольшом участке разрушает ее. Липиды оболочки сперматозоида сливаются с липидами оболочки яйцеклетки, и по образовавшемуся узкому каналу содержимое его головки – ядро сперматозоида – проникает в ее цитоплазму (Stein K.K. et al., 2004). Сразу после проникновения головки сперматозоида в яйцеклетку происходит кортикальная реакция. Под действием ферментов повышается концентрация кальция в жидкой части цитоплазмы - цитозоле и в результате zona pellucida превращается в membrane fertilizata. Она не способна к запуску акросомной реакции другими сперматозоидами – так предотвращается полиспермия.

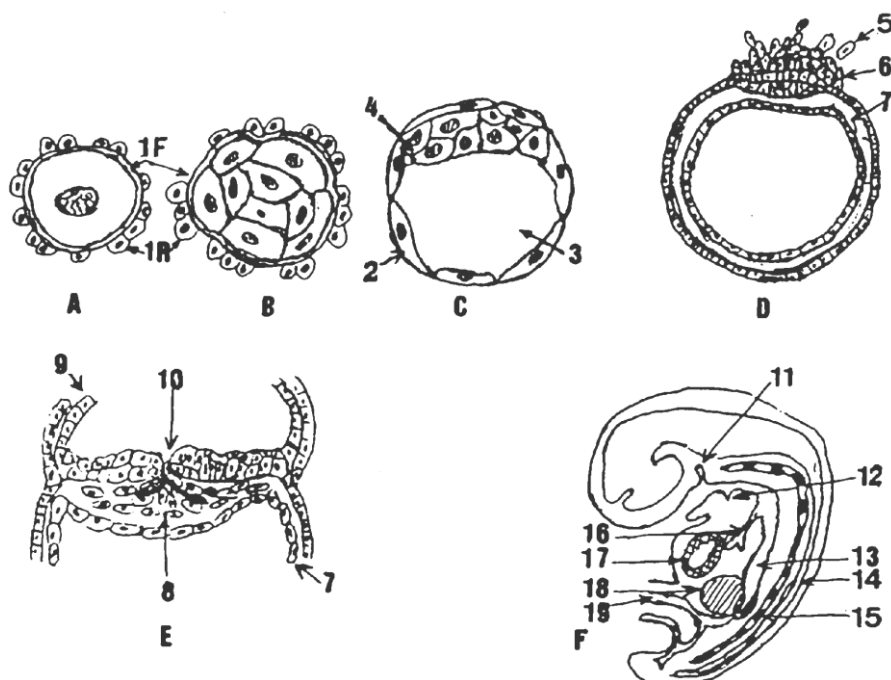
После проникновения головки сперматозоида с его ядром в яйцеклетку оба их ядра набухают, оболочки ядер лизируются, пронуклеусы перемешиваются; образуется синкарион (♀ + ♂). Этот процесс – сингамия – и есть собственно оплодотворение, в результате которого образуется новый организм, пока еще одноклеточная зигота, но с полным набором 46 хромосом, в том числе двух половых.

2.2. Постфертилизационные процессы

В течение оплодотворения и сразу после него в зиготе изменяется ионный состав, более соответствующий создавшейся ситуации. Начинается деление и передвижение по маточной трубе, зигота превращается в морулу. Она, как и зигота, окружена оболочкой оплодотворения (membrane fertilizata), на поверхности которой

сохраняются фолликулярные клетки, образующие corona radiata (лучистый венец). Передвижение морулы продолжается три дня (см. Рис. 2.1, А, В, С, D).

Рис.2.1. Ранние этапы развития зародыша человека



А – зигота, первый день после оплодотворения, находится во входе в маточную трубу. Образовалась membrane fertilizata (**1F**). Вне ее – фолликулярные клетки в виде corona radiata (**1R**).

В - морула, 2-3 дни, передвигается по маточной трубе к входу в матку. Происходит деление с образованием группы клеток, membrane fertilizata (оболочка оплодотворения) и corona radiata (лучистый венец) сохранены (**1F и 1R**).

С – бластоциста, 4-6 дни, находится в полости матки, на шестые сутки – начало имплантации. Разрушаются membrane fertilizata и corona radiata, образуется слой тесно соединенных клеток трофобласта (**2**), формируется полость – бластоцель (**3**) и внутренняя группа клеток – бластодиск (**4**).

Д – гастрюла, 7-13 дни, происходит имплантация в децидуальную ткань матки. Интенсивно пролиферирует и инвазирует трофобласт (**5**), бластодиск (**6**) разделяется на несколько слоев клеток, образуется гипобласт (**7**). В дальнейшем он преобразуется в желточный мешок.

Е – продолжение гастрюляции, 14-21 дни, располагается в децидуальной ткани, выделяются желточный мешок (**7**), слои мезодермы и энтодермы (**8**), амнион (**9**). Образуется нервная пластинка, а затем нервный желобок (**10**). Начинается формирование кровяных островков, сердца и печени.

Ф - эмбрион, 5 неделя. Происходит интенсивный органогенез: образуются карман Rathke (**11**) – в будущем передняя доля гипофиза; ductus thyreoglossus (**12**), желудок и кишечник (**13**), нерная трубка (**14**), хорда (**15**), трахея и зачатки бронхов (**16**), сердце (**17**), печень (**18**), желточный стебелек (**19**).

Использованы источники (в модификации): Sadler T.W., 1995; Улумбеков Э.Г., Чельшев Ю.А. 2007.

На следующем этапе развития (бластоциста, 4-6 дни после оплодотворения) разрушаются расположенные на поверхности corona radiata и membrane fertilizata - образования материнского происхождения, которые препятствуют дальнейшему развитию зародыша. Вместо них образуется слой клеток зародыша – трофобласт, с частью присущих новому организму антигенов, представленных, в основном, HLA-G, HLA-D и, возможно, их вариантами. Они интенсивно делятся, проникают в

децидуальную ткань и формируют полость для имплантации зародыша. Формируется группа клеток, из которых будет образовываться сам зародыш – бластодиск.

На стадии гаструлы (7-21 день) происходит имплантация зародыша в децидуальную ткань. Образуются органы, обеспечивающие повышение обмена веществ – амнион и желточный мешок, интенсивно пролиферируют клетки бластодиска, формируя зачатки тканей самого зародыша – эктодерму, энтодерму и мезодерму (Рис.2.1D). В конце периода гаструлы начинают формироваться кровяные островки, сосуды, сердце, печень и ворсины плаценты, а также нервная пластинка, затем нервный желобок и нервная трубка – будущий мозг.

В эмбриональном периоде (3-8 недели развития) формируются органы эмбриона. На рис.2.1F схематично представлено состояние органогенеза на 5 неделе: карман Rathke (будущая передняя доля гипофиза), закладка щитовидной железы и тимуса, желудок и кишечник, нервная трубка, хорда, трахея и начало формирования бронхов, сердца, печени. На этой стадии закладываются также поджелудочная железа, пронефрос, мезонефрос и метанефрос, надпочечники, гонадные валики и другие органы.

2.3. Защита зародыша в постфертилизационном периоде

Из способов неспецифической защиты зародыша важную роль играют антикомплементарные белки. Комплемент обладает способностью разрушать клетки путем иммунного лизиса (классический путь) или другими ферментативными способами (альтернативный путь). Еще зрелые половые клетки – гаметы, а затем зародыши и окружающие их клетки в доимплантационном периоде выделяют несколько белков, обладающих антикомплементарным действием. Это membrane cofactor protein (MCP, маркерный антиген CD46), способный связывать компоненты комплемента C3b и C4b, что делает их доступными для расщепления протеазой. Другой белок - decay acceleration factor (DAF, CD55) ускоряет разрушение комплемента. Белок протектин (CD59) препятствует лизису клеток эмбриона, вызванному комплементом. Таким образом, с помощью MCP, DAF и протектина, выделяемых оболочками, гамета или зародыш спасают себя (Fenichel P. et al., 1995; Taylor C.T., Johnson P.M., 1996), и это притом, что в матке, маточных трубах и фолликулярной жидкости яичников имеются все компоненты комплементарного каскада.

В доимплантационном периоде зародыш обладает и специфическими иммунными реакциями. Как показали наши исследования, фолликулярные клетки, окружающие яйцеклетку, а после оплодотворения – зиготу и морулу, содержат SC, J-цепь и иммуноглобулины и, следовательно, относятся к СИС. Их цитоплазматические отростки проникают через zona pellucida к яйцеклетке, осуществляя обмен веществ, в том числе передавая ей иммуноглобулины. В составе corona radiata фолликулярные клетки сохраняются на membrane fertilizata. Это дает основания полагать, что обмен веществ с зародышем они продолжают. В том числе проходят и материнские иммуноглобулины, осуществляя иммунную защиту зародыша от микробных и других патогенов.

В конце периода морулы, после разрушения corona radiata и membrane fertilizata их функции снабжения, обмена и защиты зародыша переходят к трофобласту (trophe - питание, blastos – зародыш). Этапы развития собственной иммунной защиты зародышей – презембрионов, эмбрионов и ранних плодов, в том

числе трофобласта, моноцитов и других факторов иммунной защиты рассмотрены в главе 6.

2.4. Формирование секреторной иммунной системы эмбриона и плода

В эмбриональном периоде общая иммунная система – иммунокомпетентные клетки и органы, еще отсутствуют. Первые проТ- и проВ-лимфоциты появятся к 4-5 неделям развития (Labastie M.C. et al., 1998; Melchers F., Rolink A., 1999; Hardy R.R., et al., 2000; Хлыстова З.С., 2006). Однако, в трофобласте ворсин хориона содержатся несколько видов рецепторов, обеспечивающих транспорт иммуноглобулинов беременной к зародышу. Это полииммуноглобулиновый рецептор (pIgR/SC), J-цепь, рецепторы для IgG – Ig-гамма RI(CD64), Ig-гамма RII(CD32), Ig-гамма RIII(CD16), рецептор для IgA – Ig-альфа-R, и другие (Jauniaux E., et al., 1995; Simister N.E., 1998, 2003; Gurevich P., et al., 2003A). Имеются сообщения о транспорте IgE через плацентарный барьер (Sverremark Extrom E. et al., 2002). Приведенные данные и иммуногистохимическое выявление IgG, IgA и иногда IgM в тканях плацентарного барьера и эмбриона показывают, что эти иммуноглобулины имеют материнское происхождение (Gurevich P., et al., 2003A, 2003B). В конце первого триместра начинается и затем возрастает синтез иммуноглобулинов плода, особенно IgM, а также IgA, и доля их увеличивается (Ben-Hur H., et al., 2005).

К началу эмбрионального периода на 3.5-4 неделях компоненты СИС – SC, J-цепь, IgG, в меньшей степени IgA и изредка IgM, распространены во всех структурах и тканях эктодермального, энтодермального и некоторых - мезодермального происхождения (Рис.2.2 и следующие).

Функциональная активность СИС проявляется уже до 3.5-4 недель развития при инфекции родовых путей с распространением на оболочки зародыша. При хориоамнионите инфицированные околоплодные воды заглатываются в желудок и кишечник. Это вызывает выделение иммуноглобулинов из эпителия желудка и кишечника в их просвет, а также из гепатоцитов, а у эмбрионов 4-7 недель – из клеток ацинусов и протоков поджелудочной железы, трахеи, бронхов и других органов. Исчезновение иммуноглобулинов, главным образом IgG, менее IgA, из эпителия перечисленных органов четко видно при иммуногистохимической окраске. Например, число эпителиальных клеток пищеварительного и дыхательного трактов, содержащих иммуноглобулины, у инфицированных уменьшается до $7,5 \pm 2,3\%$ по сравнению с $77,8 \pm 6,3\%$ у неинфицированных эмбрионов и плодов (Gurevich P., et al., 2002).

В процессе органогенеза состав органов содержащих SC, J-цепь и иммуноглобулины изменяется в зависимости от функции органов и их структуры: наличия полости выстланной эпителием и от возможности секреции иммуноглобулинов. На 4 - 7 неделях развития белковые компоненты СИС

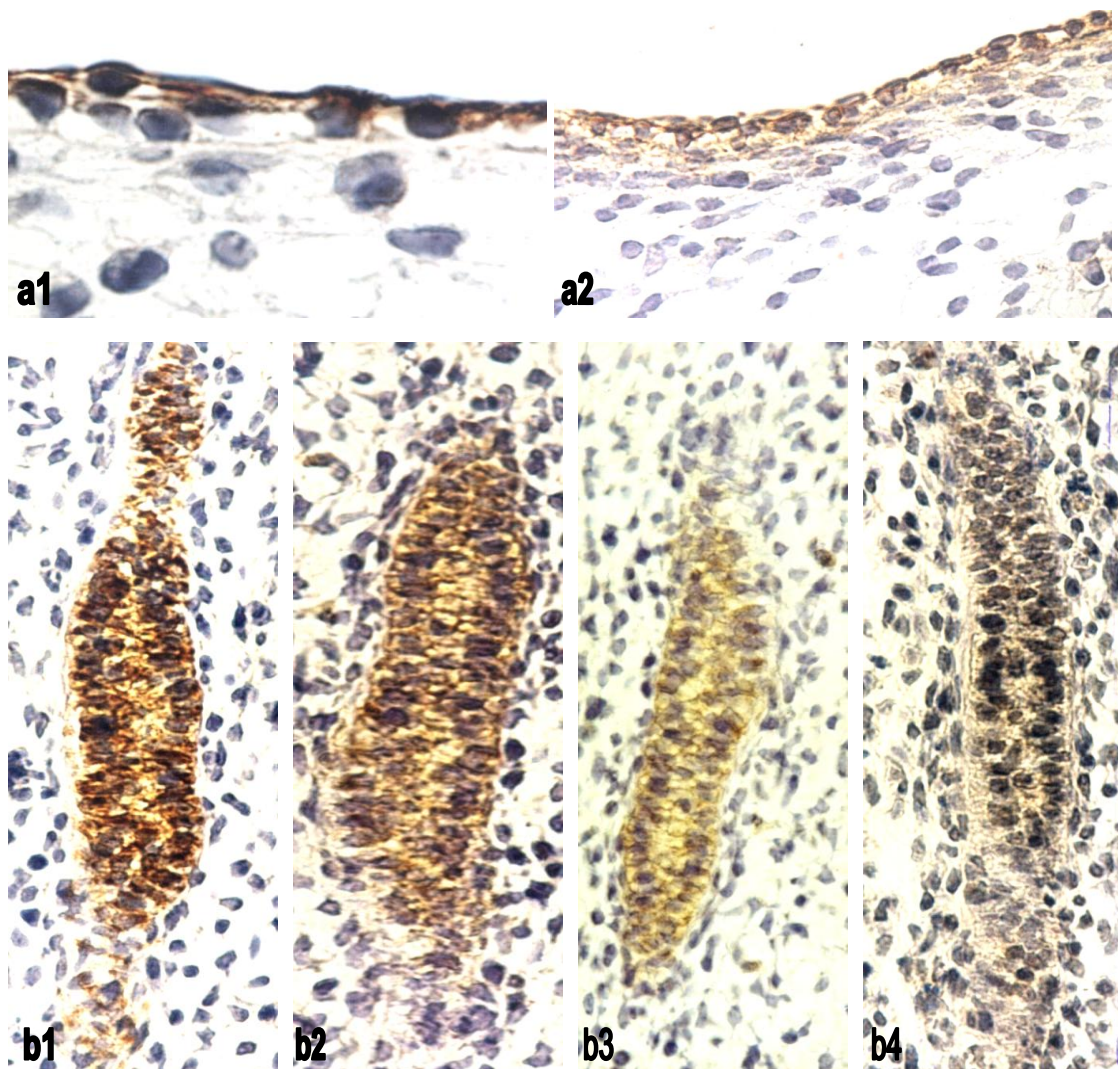


Рис.2.2. Все случаи 3.5 – 4 недели. Обращает внимание широкое распространение компонентов СИС – SC(+), J-цепь(+), а также иммуноглобулинов (+) в тканях эмбрионов и даже в доэмбрионах: например, в трофобласте, в хорде, в клетках нервной трубки, первичной кишки и многих других. Они могут остаться на всю жизнь, например, кишки и их производные, либо исчезают в соответствии с функциями вновь образующегося органа и преобразуются в другие комплексы защиты (см. Рис.3.1 – мозг и другие органы – глава 3).

А – кожа, **a1** - SC(+) в одном ряду эпителия, **a2** – J-цепь (±) и иммуноглобулины.

В – хорда, **b1** – SC(+), **b2** – J-цепь(+), **b3** – JgG(+), **b4** – IgM(±) – намечается образование позвонков. В последующем эпителий кожи сохраняет SC и J-цепь, а хорда с превращением в кость компоненты СИС исчезает. Все А x1000, В x400.

выявляются в эпителии кожи, стомодеума, начальной части кишки, желудка, кишечника, протоков и ацинусов поджелудочной железы, трахеи и бронхов, желчных протоков, канальцев пронефрос и мезонефрос и их протоков – парамезонефротического Muller и мезонефротического Wolff, в мезотелии полости тела, эпикарде, гонадных валиках, в эпителии кармана Rathke (зачаток передней

доли гипофиза), ductus thyroglossus (зачаток щитовидной железы) и карманов глотки (зачатки парашитовидных желез и тимуса), а также в эпителии экстракорпоральных тканей, в том числе в трофобласте ворсин, в трофобласте, выстилающем лакуны плаценты, инвазивном трофобласте в децидуальной ткани, в эпителии желточного мешка. Отмечается высокая реактивность SC, J-цепи и иммуноглобулинов в хорде, нейробластах поверхностного и глубокого слоев Рис.2.2).

На 8-9 неделях развития в связи с продолжающимся органогенезом и специализацией клеток отмечаются некоторые изменения в системе СИС отдельных органов. Сохраняется комплекс белковых компонентов СИС (SC, J-цепь, иммуноглобулины) в эпителии кожи, в эпителии всего желудочно-кишечного тракта, слюнных желез, протоков и ацинусов поджелудочной железы, желчных протоков в печени и вне ее, желчном пузыре, в трахее и бронхах, а также в развивающихся канальцах метанефрос (почек), в лоханках, мочеточниках и мочевом пузыре, в мезотелии полости рта, эпикарда и перикарда, в плевре, в капсуле селезенки, развивающихся гонадных валиках, эпителии фолликулов щитовидной железы. Сохраняется комплекс белков СИС в экстракорпоральных оболочках – в эпителии амниона, желточного мешка, хориона и в ворсиночном и вневорсиночном трофобласте, в энзиме и сосудистых сплетениях желудочков мозга. В клетках некоторых органов в процессе перестройки постепенно исчезали все компоненты СИС. Это стенки сосудов некоторых органов и разрушающиеся органы эмбрионов – пронефрос и другие. В формирующихся органах СИС возникала в полном составе, это происходит, например, в эпителии метанефрос, мочевыводящих и половых (мужских и женских, кроме гонад) органах. Но в некоторых органах исчезал SC, а J-цепь и иммуноглобулины сохранялись. Это отмечается в нейробластах мозга, паренхиматозных клетках передней доли гипофиза, околощитовидных железах, островках поджелудочной железы (см. главу 3). В печени SC сохранялся в периферических гепатоцитах долек, но исчезал в клетках их центра.

В последующих втором и третьем триместрах постепенно формируется клеточная структура СИС – В-лимфоциты, синтезирующие собственные иммуноглобулины плода. Антиген-распознающие клетки – мононуклеарные фагоциты (моноциты и промоноциты) начинают функционировать до 3.5 - 4 недель. Про-В-лимфоциты начинают функционировать во II триместре: появляется IgM не только в крови и клетках плодов, что отмечается в транспорте материнских IgM у эмбрионов, но в цитоплазме В-лимфоцитов в начале в печени, а затем в скоплениях в различных местах (Asma G.E.M. et al., 1984).

2.4.1. Барьерный вариант секреторной иммунной системы

У эмбрионов и плодов барьерная СИС развивается параллельно формированию оболочек и органов. К ним относятся входящие в состав плацентарного барьера разные виды трофобласта (цитотрофобласт, синцитиотрофобласт, пролиферирующий трофобласт ворсин и вневорсинчатые: инвазивный трофобласт в децидуальной ткани и трофобласт, выстилающий лакуны крови беременной), эпителий амниона, желточного мешка, мезотелий серозных оболочек и его производные (эпикард, перикард, плевра, оболочки селезенки и гонадных валики), энзимы желудочков мозга, а также другие кровяно-тканевые и ткане-тканевые (фолликулярные клетки яичников, нейроны мозга и другие). Основной функцией их является транспорт иммуноглобулинов, главным образом

IgG, у эмбрионов – беременной, а на II триместре дополнительно синтезируются иммуноглобулины фетального происхождения.

Клеточная структура СИС развивается параллельно с формированием общей клеточной и гуморальной иммунных систем на II триместре.

2.5. Заключение

Белковые компоненты – рецепторы секреторной иммунной системы – SC и J-цепь – широко распространены в эктодерме, энтодерме и отчасти в мезодерме формирующегося зародыша и его оболочек уже до 3.5 – 4 недель развития, одновременное присутствие иммуноглобулинов свидетельствует о функционировании СИС. Столь широкое и раннее распространение позволяет полагать, что SC и J-цепь появляются гораздо раньше – возможно в период бластоцисты, когда разрушаются фолликулярные клетки, corona radiata, а также membrane fertilizata, служившие защитой зиготы и морулы. Вероятность столь раннего развития подтверждается еще со стороны филогенеза: J-цепь имеется уже у беспозвоночных. По-видимому, и SC появляется гораздо раньше, чем у позвоночных и тем более не только у млекопитающих.

Глава 3. Формирование индивидуальной иммунной защиты жизненно важных клеток и органов эмбрионов и плодов человека

3.1. Развитие секреторной иммунной системы и ее превращения

В предыдущей главе были изложены данные о формировании СИС: ее транспортных элементов – полииммуноглобулинового рецептора – секреторного компонента (SC) и J-цепи в доэмбриональном и эмбриональном периодах. Эти рецепторы транспортируют иммуноглобулины беременной через барьеры трофобласта, а затем другими транспортными средствами они разносятся по зародышу и широко захватываются в структуры эктодермального, энтодермального и мезодермального происхождения. Так к началу эмбрионального периода функционирует СИС – система, обеспечивающая иммунную защиту преэмбриона, эмбриона и его оболочек.

В процессе органогенеза некоторые новообразованные структуры утрачивают прежнее строение и связь с поверхностным эпителием и полостями органов, теряя возможность экскреции иммуноглобулинов. В результате, в этих органах утрачивается SC, но в некоторых из вновь образовавшихся органов сохраняется J-цепь и иммуноглобулины. Состав этих органов характерен: нейроны мозга и спинальных ганглиев, паренхиматозные клетки органов эндокринной системы, печени, клетки гонад. В миокарде и надпочечниках SC очевидно отсутствовал с начала их развития, но J-цепь и иммуноглобулины появляются в процессе формирования этих органов.

3.2. Защита развивающегося мозга

3.2.1. Неиммунные механизмы защиты мозга

Защитные барьерные механизмы развивающегося мозга во многом отличаются от гематоэнцефалического барьера мозга взрослого человека. Это соответствует начальной стадии развития мозга. Одним из подобных неиммунных защитных механизмов является рост капиллярной сети. Ангиогенез происходит путем внедрения эндотелия в раннюю нейроэктодерму, а затем превращается в капилляры и более крупные сосуды. Фактор роста сосудистого эндотелия (VEGF) влияет таким образом на рост сосудов. Массовый ангиогенез у эмбрионов сопровождается образованием большого количества VEGF. У взрослых, когда ангиогенез незначителен или вообще отсутствует, VEGF также коррелирует с фактором сосудистой проницаемости (VPF), который ответственен за проницаемость капиллярного гемато-энцефалического барьера (BBB). Таким образом, отношение VEGF/VPF является ключевым фактором, регулирующим рост капилляров и их проницаемость, важную для предохранения мозга от вредных для него веществ (Risau W., 1994).

3.2.2. Секреторная и другие иммунные системы мозга эмбрионов и плодов

Количество обследованных эмбрионов и плодов приведены в Табл. 3.1., примененные методики представлены в главе 4.2. Первым иммунным механизмом защиты в формирующейся нервной трубке является СИС. У эмбрионов 3.5 – 4 недель развития на всем протяжении нервной трубки отмечается положительная иммунохимическая окраска SC, J-цепи и иммуноглобулинов. Окраска IgG более значительна, IgA – несколько слабее, IgM - отсутствует. Окраска SC более интенсивна в поверхностных нейробластах и базальных нейроэпителиальных клетках (Рис.3.1).

На 5 – 6 неделях окраска SC в нейробластах значительно ослабевает, но сохраняется в местах сужения нервной трубки. Окраски J-цепи и иммуноглобулинов сохраняются более или менее равномерно во всех участках. К концу первого и в начале второго триместров SC исчезает на значительных участках, слабая окраска имеется только в местах сужения трубки и в клетках формирующихся глаз, но сохраняется J-цепь и иммуноглобулины. Интенсивная иммуноокраска SC, J-цепи и иммуноглобулинов отмечается в эпендиме желудочков и эпителии сосудистых сплетений.

Во втором и третьем триместрах в образующихся продолговатом мозгу, коре мозжечка и полушариях формируются группы нейронов. Они не содержат SC, но в самих нейронах и их дендритах, а также в нейронах спинальных ганглиев выявляются J-цепь, IgA (более интенсивная окраска), IgG, иногда IgM. Это начало формирования еще одной формы иммунных реакций – внутриклеточное накопление иммуноглобулинов с участием J-цепи вне СИС в жизненно важных клетках. В эпителии сосудистых сплетений и эпендиме желудочков сохраняется полный комплект белков СИС, включая SC. Клетки нейроглии не содержат компонентов СИС.

Табл.3.1. Количество обследованных эмбрионов и плодов

Срок развития	Эмбрионы			Плоды				Итого
	3.5-4 недели	5-8 недель	Всего	9-12 недель	Второй триместр	Третий триместр	Всего	
Без инфекций	3	15	18	6	12	5	23	41
Инфицированные	3	12	15	4	8	10	22	37
Итого	6	27	33	10	20	15	45	78

Важную роль в поддержании нормального состояния мозга и, в том числе в иммунной защите, играют желудочки мозга и расположенные в них сосудистые сплетения. Желудочки формируются в следующем порядке: четвертый, два боковых и средний (Dziegielewska K.M., et al., 2001). Функции эпендимы, выстилающей

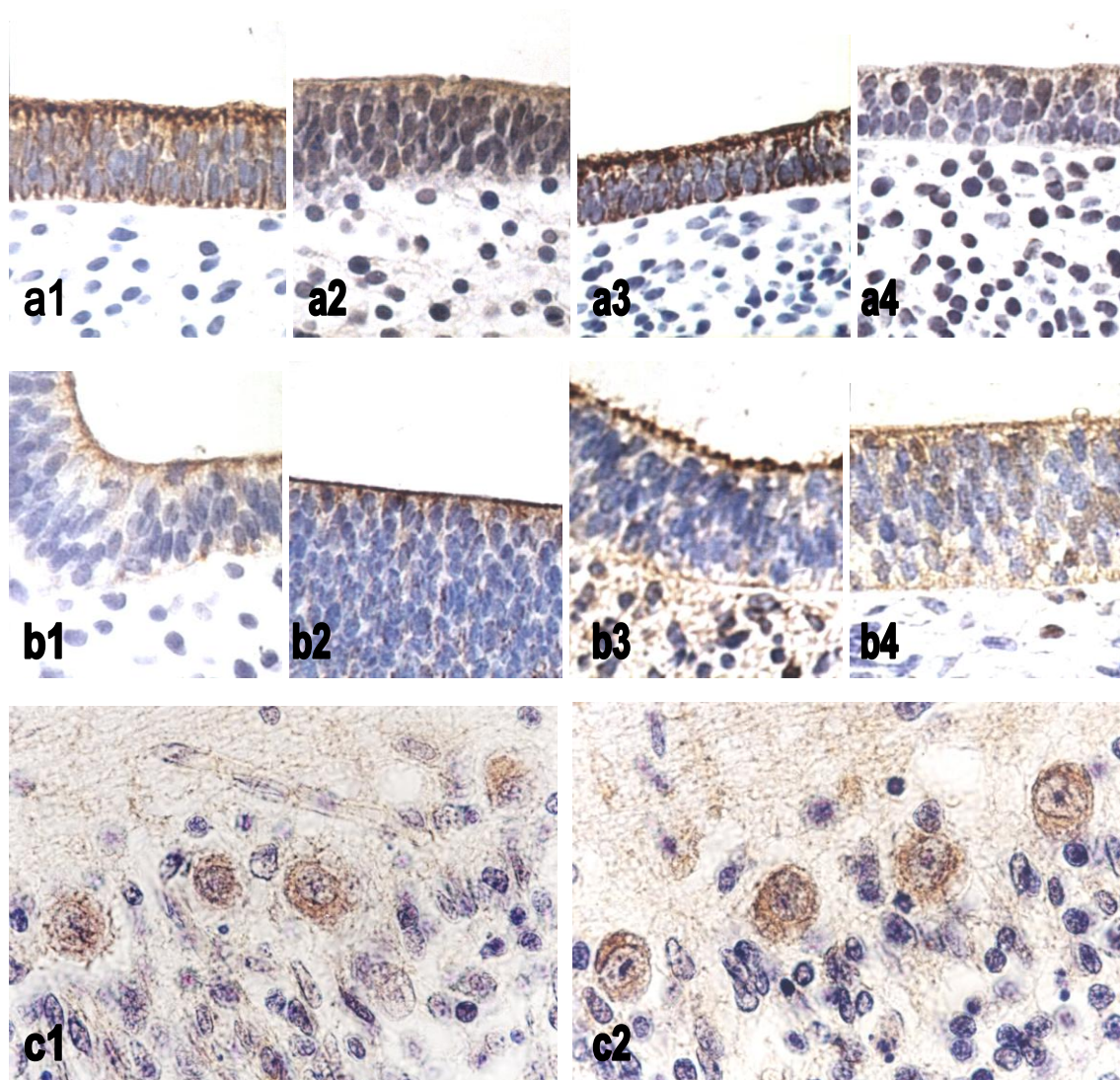


Рис.3.1. Развитие СИС нервных структур. Все случаи без инфекции. **А** – эмбрионы 3.5 – 4 недели. Нервная трубка. Весь комплекс нейробластов: **a1** – SC(+), **a2** – J-цепь, **a3** – JgG(+), **a4** – IgA(±). **В** – структуры мозга. 9 недель развития. **b1** – поверхностный слой нейробластов еще сохранился: SC(+), **b2** – J-цепь(+), **b3** – JgG(+), **b4** – IgA(±), в прочих слоях SC, J-цепь и иммуноглобулины (-) или (±). Все случаи **a** и **b** x400. **С** – плод 22 недели развития. Мозжечок: **c1**- J-цепь(+) в клетках Пуркинье (Purkinje) и их волокнах, **c2** – IgA(+). Клетки зернистого слоя и глии, J-цепь и IgA(-), также во всех структурах SC, J-цепь и иммуноглобулины(-). Во всех случаях **c** x1000. Сравнение состояния нервных тканей в последующих сроках показывает исчезновение SC в формирующихся нейронах и некоторых других клетках мозга.

стенки желудочков и покрывающей сосудистые сплетения, состоят в транспорте иммуноглобулинов и воды в цереброспинальную жидкость. Поддержание должного состояния воды особенно важно для сохранения тканей мозга. Это не только физическое сохранение нежных тканей мозга в костном футляре путем

гидравлической амортизации. Мозговая жидкость содержит соли и очень мало белка, а во втором и третьем триместрах также иммунокомпетентные клетки, в том числе различные виды лимфоцитов, элементы общей иммунной системы. В эпендиме желудочков и сосудистых сплетений сохраняется полный комплект рецепторов СИС - SC, J-цепь и иммуноглобулины (Рис.3.2.).

Кроме того, в самих нейронах, образующих ядра продолговатого мозга, мозжечка и межпозвоночных ганглиев, а позже в нейронах других областей мозга содержатся J-цепь и иммуноглобулины без SC. Это формируется другая система иммунной защиты паренхиматозных клеток жизненно важных органов.

Воспалительные процессы в эмбриональном периоде отличаются от морфологических проявлений воспаления у плодов. Это связано с отсутствием иммунокомпетентных клеток (имеются только мононуклеарные фагоциты и одиночные лимфоциты в печени). Общая иммунная система начинает формироваться в конце первого – начале второго триместра у плодов.

Воспалительные процессы у плодов второго и третьего триместров, причиной которых чаще является восходящая инфекция родовых путей с осложнением в виде хориоамнионита (см. глава 4.5, группа 3А), обычно не осложняются воспалением мозга и не вызывают существенных изменений в состоянии SC, J-цепи и иммуноглобулинов в эпендиме сосудистых сплетений, в стенках желудочков и нейронах различных ганглиев. При восходящей инфекции родовых путей с гематогенным распространением и развитием менинготрикулита (см. глава 4.6, группа 3В) в цереброспинальной жидкости появляется значительное количество нейтрофильных лейкоцитов, моноцитов и разных видов лимфоцитов фетального происхождения, что является признаком действия общей иммунной системы плода. В эпендиме желудочков и сосудистых сплетений ослабевает иммунохимическая окраска SC и J-цепи, иногда отсутствует окраска IgG, IgA, IgM. Могут отторгаться клетки эпендимы. Эти изменения относятся к действию СИС. В нейронах ганглиев продолговатого мозга и мозжечка окраска J-цепи сохранена, окраска IgG, IgA и IgM тоже сохранена или несколько ослаблена, структура нейронов не изменена.

Нейроны мозга относятся к клеткам статической популяции: вскоре после рождения образование новых нейронов прекращается и, независимо от условий *in vivo*, они не способны к восстановлению, пролиферации или замещению (Ham A.W., Cormack D.H., 1983). Создается впечатление, что дополнительное внутриклеточное накопление иммуноглобулинов, кроме общей и секреторной иммунных систем, направлено на индивидуальную защиту каждой из этих столь важных клеток.

3.3. Защита эндокринных желез

Функции эндокринных желез чрезвычайно важны во время внутриутробного периода для нормального развития и выживания плода (Filiushkin I.V. et al., 1998; Harrell G., Murtagh P., 1998). Цитокины и, в частности, интерлейкины (IL1 и IL4) выявлены в передней и промежуточной доле гипофиза (Spangelo B.L., Gorospe W.G., 1995). Эти межклеточные медиаторы осуществляют взаимоотношения между

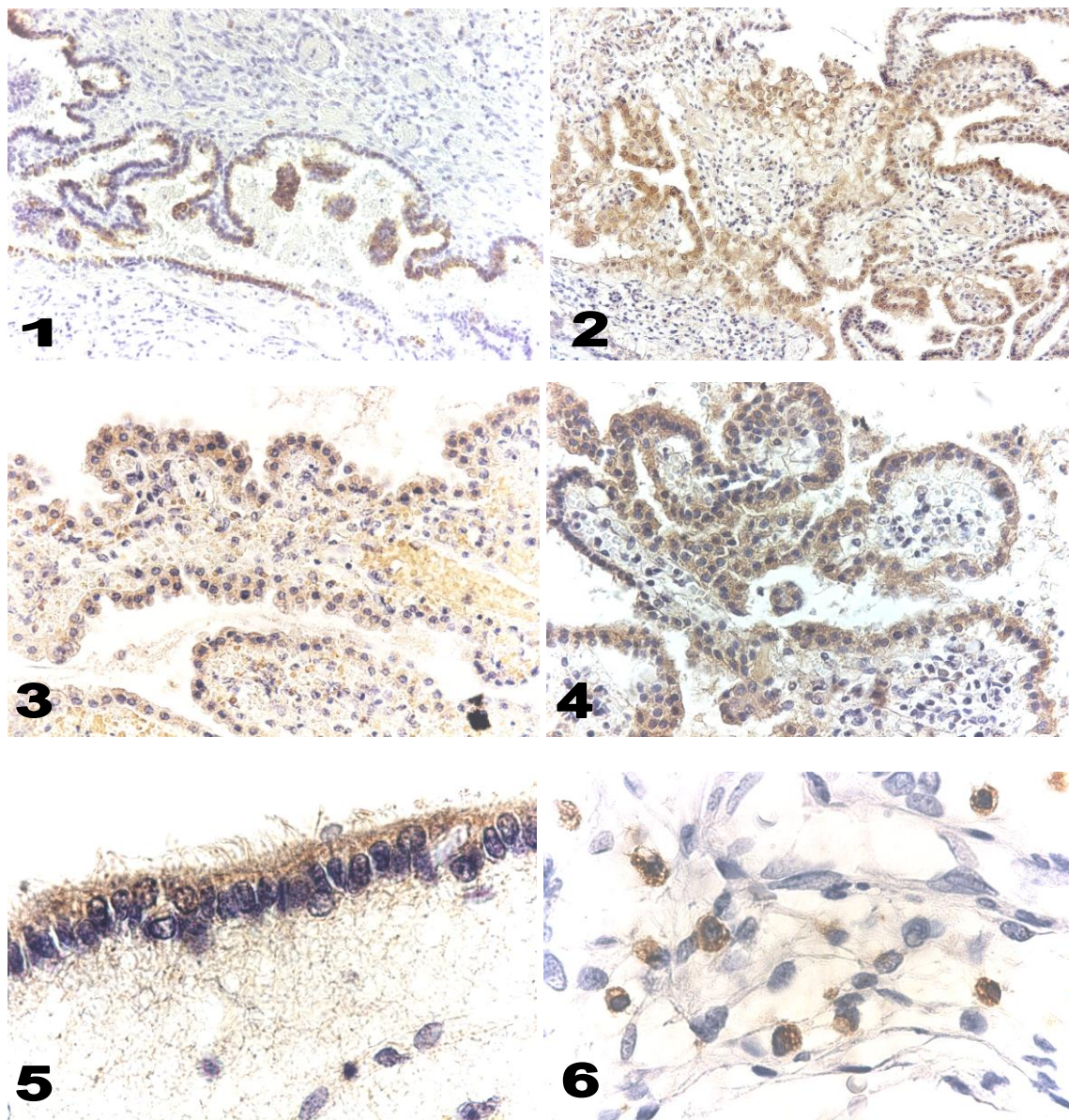


Рис.3.2. В сосудистых тканях желудочков мозга сохраняют СИС с ее полными структурами – SC, J-цепь и иммуноглобулины. Это связано с обменом веществ через желудочки мозга и их жидкость. У плодов 16 – 19 – 22 недель в сосудистых сплетениях, в эпендиме имеются: **1** – SC(+), **2** – J-цепь, **3** – IgG(+), **4** – IgA(+), **5** – IgM(+ в части случаев), **6** - в случаях без воспаления и аллогенных конфликтов в строме имеются моноциты. Увеличение - 1, 2, 3, 4 x400, 5 и 6 x1000.

клетками, вовлеченными в защитные ответы, в том числе иммунные и воспалительные. Gurevich P. et al. (2001A) описали проявления иммунной защиты в паренхиматозных клетках эмбрионов и плодов человека от 3.5 до 38 недель развития в гипофизе, щитовидной и околощитовидных желез, островков поджелудочной железы и их предшественников.

3.3.1. Гипофиз

В эпителии stomadeum, глотки и кишечной трубки эмбрионов, из которого образуется большинство крупных эндокринных желез, SC, J-цепь и IgG содержатся в 92-98% всех клеток. Затем на всем протяжении второго и третьего триместров в перечисленных органах, сохраняющих свою структуру и функции, содержатся компоненты СИС, только содержание IgA и IgM в них незначительно, что проявляется в более слабой иммунной окраске.

Все упомянутые белковые компоненты СИС содержатся также в кармане Rathke и в эпителии глотки, из которой он вырастает. Когда верхняя часть кармана Rathke достигает турецкого седла и начинает перестраиваться в переднюю долю гипофиза, просвет его исчезает, образуется скопление паренхиматозных клеток, разделенных клетками стромы и капиллярами. Постепенно в формирующемся гипофизе число клеток, содержащих SC, уменьшается: на 8-9 неделях развития SC выявляется в $60.5 \pm 7.2\%$ паренхиматозных клеток, во втором триместре в $19.0 \pm 2.9\%$, а в третьем триместре – в $5.5 \pm 0.8\%$ (во всех трех группах различия $t < 0,001$) (Рис.3.3). При этом интенсивность иммунохимической окраски J-цепи IgG, IgA, а после 10 недели и во втором и третьем триместрах – IgM, не только сохраняется, но увеличивается в паренхиматозных (не стромальных) клетках. В клетках нейрогипофиза SC не выявляется, но J-цепь и иммуноглобулины дают слабую иммуноокраску. Промежуточная доля гипофиза содержит несколько мелких желез, выстланных кубическим эпителием, в котором выявляются SC, J-цепь и иммуноглобулины. Эта доля рассматривается как рудимент без эндокринной функции, но она содержит интерлейкины IL1 и IL6 и, возможно, является продуцентом межклеточных медиаторов.

3.3.2. Щитовидная железа

Щитовидная железа закладывается в конце 4 недели развития из эпителия ductus thyroglossus в виде двух выростов. К 7 неделе из них формируются две доли, соединенные перешейком. На 10 – 11 неделях они состоят из трабекулярных и альвеолярных групп эпителия, 85-97% которого содержат SC, J-цепь и иммуноглобулины. После одиннадцатой недели формируются фолликулы, заполненные коллоидом и выстланные одним слоем тиреоцитов. Тиреоциты на протяжении всего оставшегося фетального периода содержат SC, J-цепь и иммуноглобулины (Рис.3.4.). Таким образом, щитовидная железа является исключением из числа крупных эндокринных желез: в ее клетках, как и в клетках желез промежуточной доли гипофиза, SC не исчезает. Это связано с особенностями транспортировки тиреоглобулина: тиреоциты секретируют его в коллоид, там он созревает, а затем реабсорбируется в тиреоциты и выделяется на их базальной стороне в капилляры (Kirsten D., 2000). В коллоиде SC и J-цепь отсутствуют, а окраска иммуноглобулинов в нем более интенсивна, чем в тиреоцитах.

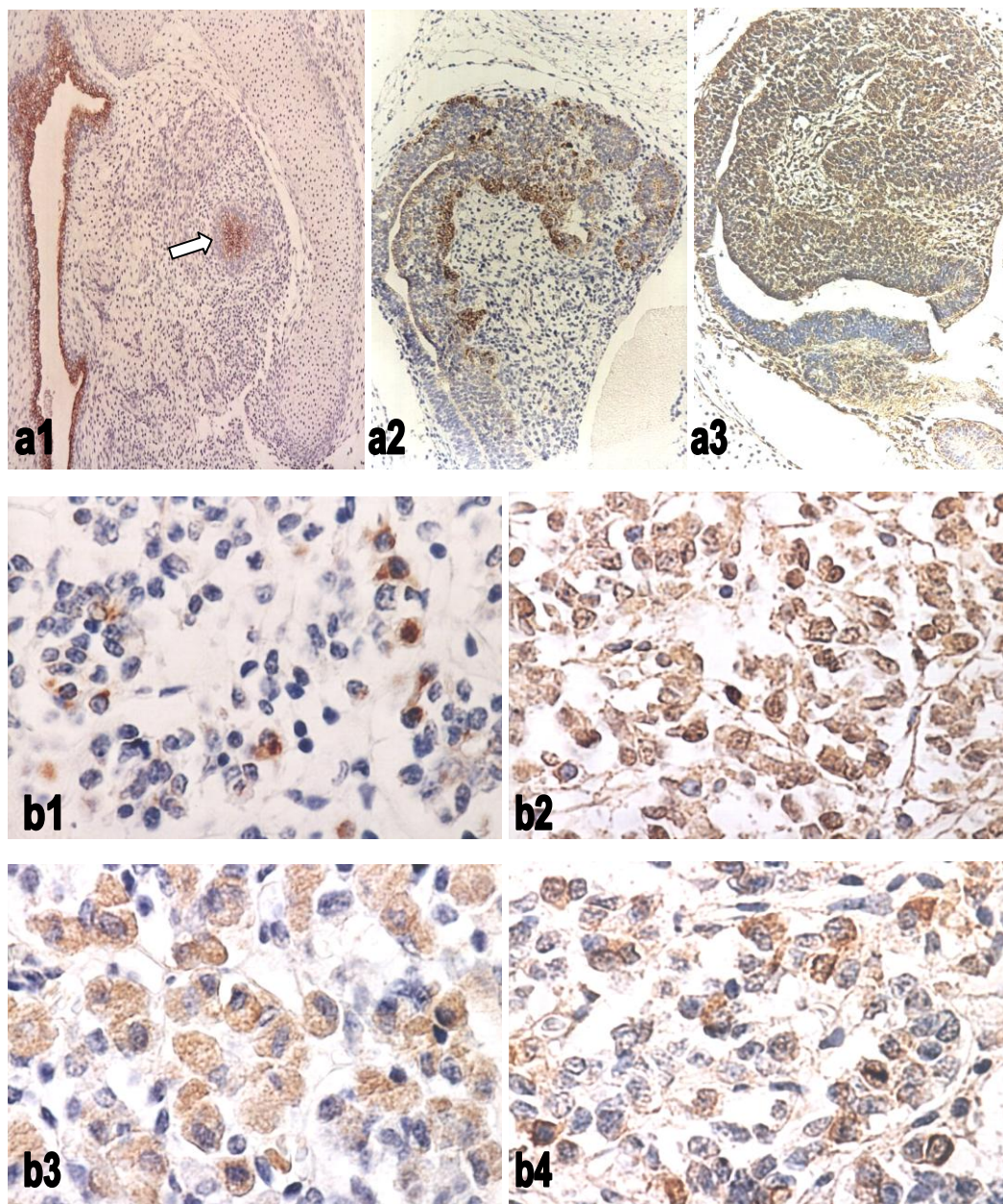


Рис.3.3. Формирование аденогипофиза. А – вторая половина первого триместра (7 недель): **a1** – в турецком седле черепа из глоточного кармана Rathke образуется передняя часть аденогипофиза (стрелка), почти все его клетки SC(+), **a2** – 10 недель, количество клеток SC(+) значительно уменьшается, **a3** – J-цепь содержится уже почти во всех паренхиматозных клетках. В – к концу второго периода: **b1** – остаются лишь единичные SC(+) клетки, **b2**, **b3**, **b4** – паренхиматозные клетки – содержат J-цепь, IgG и IgA. Увеличение a1 x100, a2 и a3 – x200, b1, b2, b3, b4 – x1000.

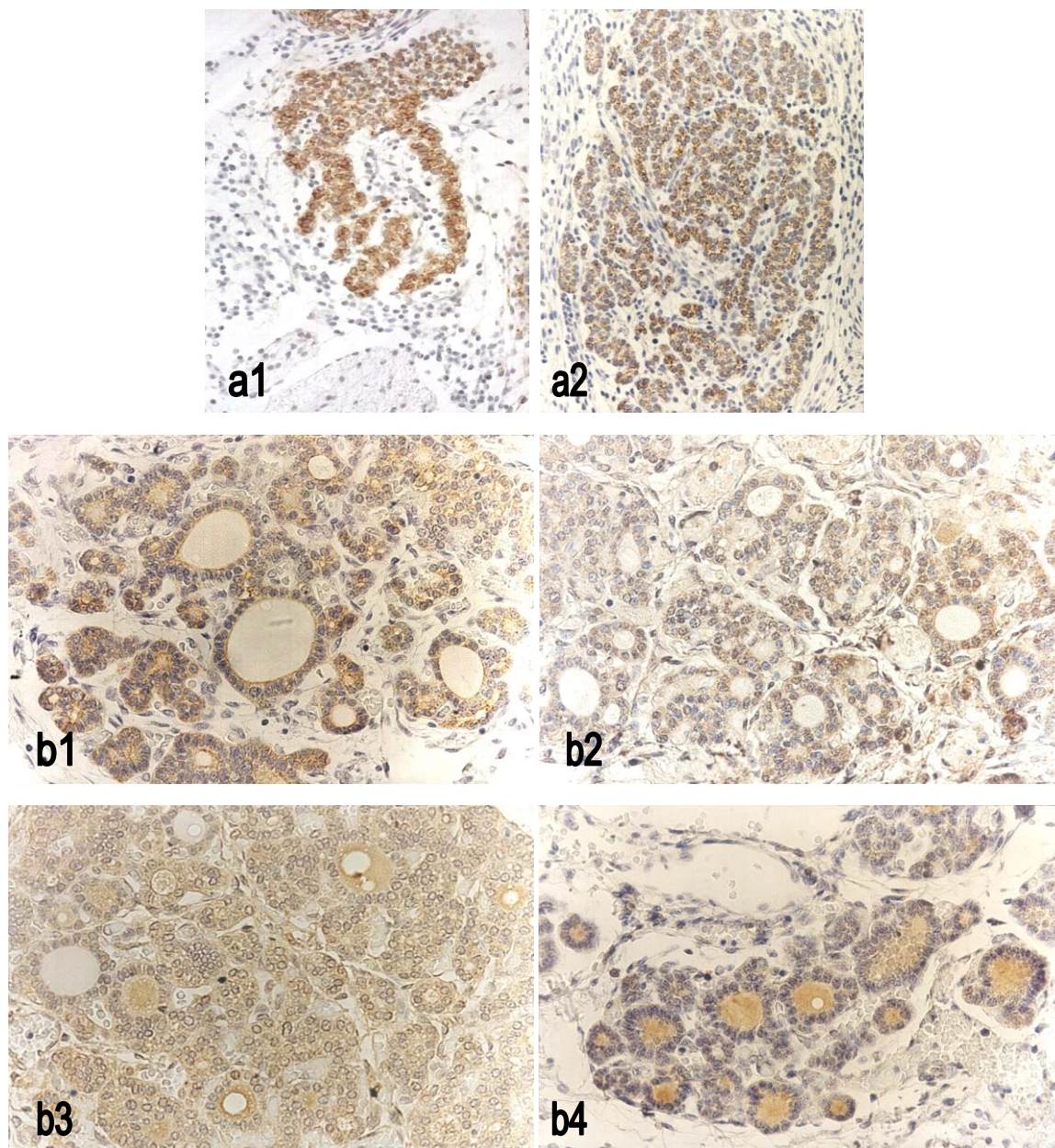


Рис.3.4. А – щитовидная железа в развитии, **a1** – одна из двух долек, 5 недель развития. Большинство клеток SC(+), **a2** – то же, 10 недель. Все паренхиматозные клетки – SC(+). Увеличение x200. В – щитовидная железа, 15 недель, **b1** – SC(±) эпителий желез, коллоид малых желез SC(±), крупных SC(-), **b2** – J-цепь(+) эпителий желез, большинство коллоида (-), **b3** – IgG(+) эпителий желез и (+) большинство коллоида, **b4** – IgM(+) коллоид, (±) эпителий. Увеличение x400. Изменение содержания желез в коллоиде и менее в эпителии является следствием его секреции.

3.3.3. Паращитовидные железы

Эти маленькие железки мы видели как тяжи эпителия на пятой неделе развития. Составляющий их эпителий содержал SC, J-цепь, IgG и IgA во всех клетках. У плодов в середине второго триместра в этом эпителии выявлялись J-цепь

и иммуноглобулины, слабая иммуноокраска SC отмечена в 39.9% случаев в светлых главных клетках.

3.3.4. Островки поджелудочной железы

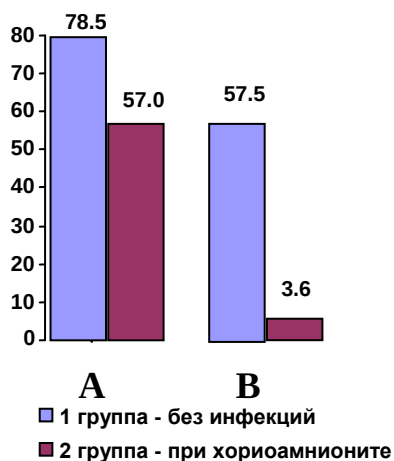
Поджелудочная железа, ее экзокриновая часть, на 4 неделе развития представляет собой группу долек. В их эпителии в начале эмбрионального периода и затем во втором и третьем триместрах содержатся SC, J-цепь, IgG, IgA и, менее, IgM. Эндокринная часть железы – островки Langerhans, образуются из клеток экзокринной части. В начале второго триместра они содержат J-цепь и иммуноглобулины, причем их иммуноокраска более интенсивна, чем в расположенном рядом эпителии экзокринных ацинусов и протоков. SC в островках

Таблица 3.2. Содержание иммуноглобулинов в клетках ацинусов поджелудочной железы и в ее островках Langerhans без инфекции и при ней у плодов конца II – III триместров (% от числа клеток)

Иммуноглобулины	Случаи без инфекции (в островках и ацинусах аналогичны), %	Случаи с инфекциями	
		% клеток островков	% клеток ацинусов и протоков
IgG	83.9 ± 7.3	72.7 ± 6.9	5.2 ± 1.7 ^{a b}
IgA	54.3 ± 5.1	42.9 ± 3.9	1.3 ± 0.6 ^{a b}
IgM	37.5 ± 3.4	22.8 ± 2.8 ^a	2.4 ± 1.1 ^{a b}

^{a, b} - достоверное различие ($p < 0.01 - 0.001$) количества (%) клеток, содержащих иммуноглобулины

Диаграмма 3.1. Число клеток, содержащих иммуноглобулины, в структурах поджелудочной железы: гормональные клетки островков Langerhans (A) и эпителий ацинусов и протоков (B) в норме и при инфекциях у плодов (%)



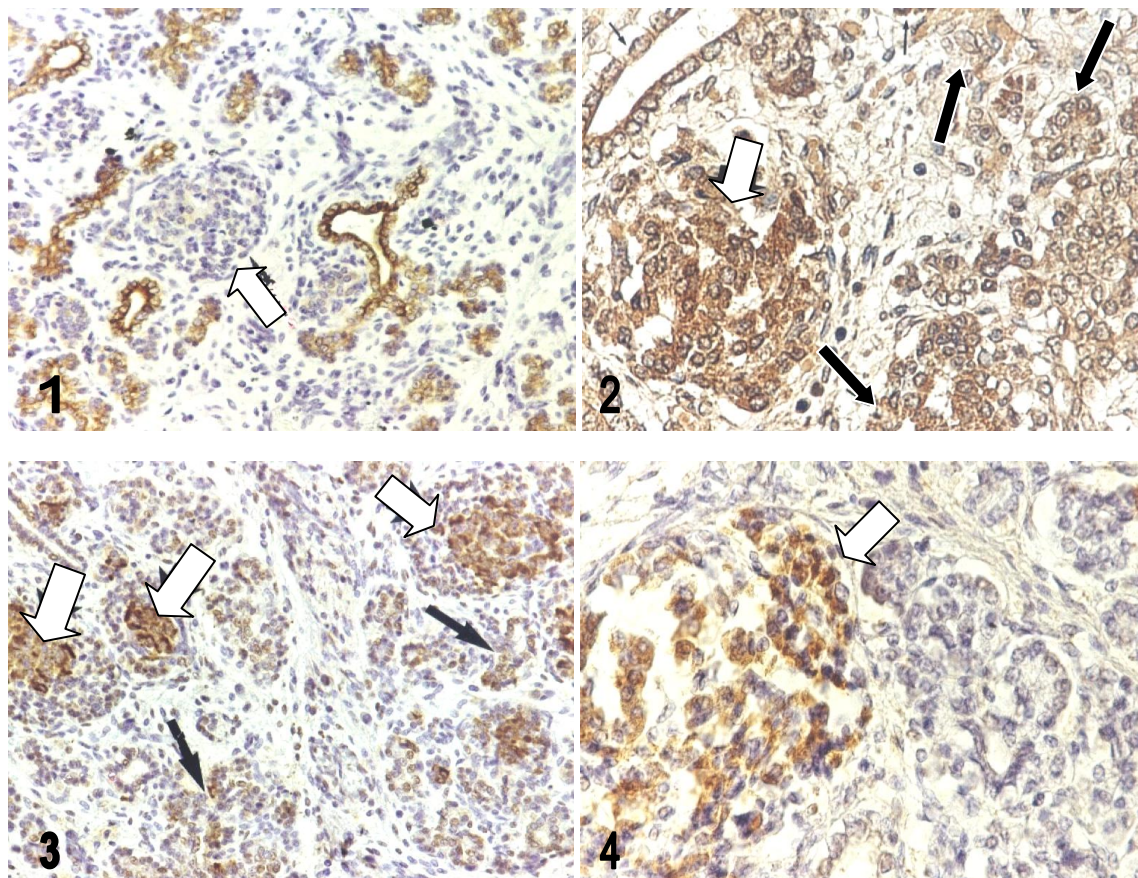


Рис.3.5. Поджелудочная железа на 18 – 23 неделях. Светлые стрелки - островки Langerhans, темные стрелки – эпителий ацинусов и протоков. **1** – состояние нормальное - SC(-) островки Langerhans, SC(+) ацинусы и протоки. **2** – тот же случай: J-цепь, IgA, IgG и IgM (+) в клетках островков, ацинусов и протоков. **3** – умеренное воспаление (группа 3A): J-цепь, IgG, IgA и IgM (+) сохраняются в островках, но их мало в эпителии ацинусов и протоков. **4** – тяжелое воспаление (группа 3B): клетки островков, J-цепь и иммуноглобулины (+), в ацинусах и протоках эти компоненты в единичных клетках. Увеличение: 1 и 3 x200, 2 и 4 x400

Таблица 3.3. Среднее количество В-лимфоцитов, содержащих иммуноглобулины в строме эндокринных желез (на 50000 μm^2 площади препарата)

Органы	IgG	IgA	IgM	IgG	IgA	IgM
	Группа – без патогенных воздействий					
	I триместр			II-III триместры		
Гипофиз	-	-	-	0.3±0.2	0.2±0.2	0.6±0.2 ^a
Щитовидная железа	-	-	-	0.3±0.2	0.1±0.1	0.5±0.2 ^a
Поджелудочная железа	-	-	-	0.8±0.4	0.5±0.2 ^a	1.5±0.5 ^a
Надпочечники	-	-	-	0.2±0.2	0.1±0.1	0.3±0.2
	Группа – имеются инфекции или аллогенный конфликт					
Гипофиз	единичные	-	единичные	0.1±0.1	-	0.1±0.1 ^b
Щитовидная железа	единичные	-	единичные	0.2±0.1	0.1±0.1	0.2±0.1
Поджелудочная железа	единичные	0.2±0.2	0.8±0.2 ^b	0.7±0.3	0.4±0.2	0.7±0.3
Надпочечники	единичные	-	0.3±0.2	-	-	-

^a - значительные отличия той же группы в первом триместре $p < 0.05-0.001$

^b - значительные отличия группы 1 в том же триместре $p < 0.05-0.001$

Объяснения в Табл.3.4

выявляется в единичных клетках, а уже к 18 неделе развития он в них исчезает. В островках J-цепь и иммуноглобулины сохраняются даже при инфекциях, когда они почти полностью исчезают в эпителии ацинусов и канальцев (Таблица 3.2, диаграмма 3.1, Рис.3.5.)

3.3.5. Надпочечники

Они образуются на 4-5 неделе развития в виде скопления крупных клеток целомического эпителия мезодермального происхождения. Сам целомический эпителий, происходящие из него гонадные валики и расположенные рядом с ними клетки будущих надпочечников содержат SC, J-цепь и иммуноглобулины. Клетки интенсивно размножаются и образуют две зоны коры надпочечников: под капсулой – дефинитивная и глубже расположенная – эмбриональная (позднее – фетальная) зона. Уже в эмбриональном периоде SC не обнаруживается, имеются J-цепь, IgG и IgA (см.Рис.5.3.1). В конце второго и в третьем триместрах в клетках фетальной коры слабо положительны иммунохимические реакции на J-цепь, IgG, IgA, иногда IgM. SC отсутствует.

3.3.6. Три иммунные системы в эндокринных железах

В иммунной защите эндокринных желез в течение внутриутробного развития человека участвуют все три вида иммунных систем. Первой вступает СИС: она функционирует уже ранее 4 недели в предшественниках эндокринных желез. Признаком функционирования СИС является значительное уменьшение количества иммуноглобулинов или их полное выделение, например, при воспалениях для нейтрализации внеклеточных патогенов. Это отмечается в гипофизе при менингоэнцефалите, но в небольшой степени. В других эндокринных железах при воспалительных процессах в их зоне исчезновение иммуноглобулинов в паренхиматозных клетках незначительно или отсутствует. Причина этого в том, что в процессе органогенеза на 5-8 неделе развития формируется еще одна – индивидуальная система защиты паренхиматозных клеток, в данном случае –

эндокринных желез. В большинстве случаев эта система образуется при перестройке СИС. Перестройка заключается в устранении SC и тем самым в прекращении экзоцитоза иммуноглобулинов, и накоплении их в паренхиматозных клетках, что осуществляется благодаря сохранности J-цепи, выполняющей функцию эндоцитоза иммуноглобулинов. Это особенно наглядно в поджелудочной железе, где при инфекциях в желудочно-кишечном тракте иммуноглобулины исчезают в клетках ацинусов и эпителии протоков (зона секреторной системы), и остаются прежними или незначительно уменьшаются в островках Langerhans - зона индивидуальной системы (см. Рис.3.1, Табл.3.2).

Общая иммунная система начинает формироваться с 8-10 недель развития, когда появляются лимфоциты, в том числе В-лимфоциты (CD20+,CD79A+). Мы не могли отметить превращение В-лимфоцитов в плазматические клетки (CD20-, CD79A+) в течение внутриутробной жизни плода, даже при инфекциях. В эндокринных железах наличие общей иммунной системы проявляется в небольшом количестве Т-лимфоцитов (CD3), Т-супрессоров (CD8), упомянутых В-лимфоцитов (см. Табл.3.4.). Гораздо ранее, с началом функции желточного мешка, появляются моноциты. Т-хелперы (CD4) появляются позднее и реагируют на патогенные воздействия слабее других видов лимфоцитов. Наибольшая активность компонентов общей иммунной системы отмечается в поджелудочной железе, которая находится вблизи кишечника – зоны повышенных патогенных влияний. И, напротив, наименьшая реакция происходит в обеих группах в надпочечниках.

3.4. Иммунная защита миокарда эмбрионов и плодов

Сердце закладывается из мезенхимы на третьей неделе развития. В начале четвертой недели в двухкамерном сердце выделяются три слоя его стенки: эпикард, миокард и эндокард. В мезотелии целома к этому времени содержатся транспортные компоненты СИС – SC, J-цепь, IgG и IgA, они выявляются и в эпикарде. Миокард и эндокард не содержат SC, но в них имеются J-цепь и те же иммуноглобулины (Рис.3.6.). С формированием эндокарда в нем так же появляются J-цепь и иммуноглобулины. Эти состояния сохраняются в течение первого, второго и третьего триместров, хотя иммуноокраска иммуноглобулинов несколько ослабевает, а иногда отмечается наличие IgM. В случаях значительных воспалительных процессов существенных изменений иммуноокраски J-цепи и иммуноглобулинов в миокарде и эндокарде не отмечено. После 9-10 недель развития в миокарде появляются единичные лимфоциты CD3(+) и CD20(+) и моноциты CD68(+) 1.02 ± 0.02 на $50000 \mu m^2$ площади среза.

Приведенные данные указывают на наличие в тканях сердца небольшого количества элементов общей иммунной системы – лимфоцитов и моноцитов. Присутствие в эпикарде и перикарде SC, J-цепи и иммуноглобулинов позволяет отнести их к барьерному варианту СИС. В миокарде и эндокарде наличие J-цепи и иммуноглобулинов свидетельствует о полноценной системе индивидуальной иммунной защиты.

**Табл.3.4. Среднее количество иммунокомпетентных клеток в строме эндокринных желез
(на 50000 μm^2 площади препарата)**

Органы	CD68	CD3	CD4	CD8	CD20	CD68	CD3	CD4	CD8	CD20
	Группа – без патогенных воздействий									
	I триместр					II-III триместры				
Гипофиз	1.3±0.4	единичные	-	-	-	3.4±0.8 ^a	1.5±0.4 ^a	единичные	1.6±0.5 ^a	0.5±0.2 ^a
Щитовидная железа	1.5±0.4	единичные	-	-	единичные	3.1±0.9 ^a	2.1±0.8 ^a	единичные	1.9±0.6 ^a	0.9±0.3 ^a
Поджелудочная железа	3.8±0.7	единичные	-	единичные	единичные	6.8±1.1 ^a	3.3±1.6 ^a	0.2±0.1	3.8±1.3 ^a	0.7±0.3 ^a
Надпочечники	1.9±0.6	единичные	-	единичные	единичные	2.1±0.6	0.8±0.3 ^a	единичные	0.7±0.2 ^a	0.1±0.1
	Группа – имеются инфекции или аллогенный конфликт									
Гипофиз	3.2±0.7 ^b	0.8±0.3 ^b	единичные	0.9±0.5	0.3±0.2	5.4±1.2	1.1±0.4	0.1±0.1	0.8±0.3	0.1±0.1
Щитовидная железа	2.2±0.6	0.9±0.4 ^b	единичные	0.7±0.3 ^b	0.3±0.2	9.2±1.6 ^{a,b}	1.6±0.6	0.3±0.2	1.2±0.4	0.4±0.2
Поджелудочная железа	4.9±1.1	2.1±0.8 ^b	единичные	1.8±0.8 ^b	0.8±0.4	12.9±2.2 ^{a,b}	2.8±1.1	1.0±0.4 ^a	2.1±1.2	2.2±0.9
Надпочечники	1.1±0.4	0.7±0.3 ^b	единичные	0.7±0.2 ^b	0.3±0.2	3.4±1.0 ^a	0.2±0.2	0.1±0.1	0.1±0.1	0.1±0.1

^a – значимость отличий от той же группы в первом триместре (p<0.05-0.001)

^b – значимость отличий в группе 2 в том же триместре по сравнению с группой 1 (p<0.05-0.001)

Лимфоциты группы без инфекции I триместра находятся в состоянии начального развития. Патогенные воздействия в I триместре вызывают их ускоренное развитие. Лимфоциты II-III триместров развиты умеренно (кроме Т-хелперов, CD4). Но в патогенной группе реакция лимфоцитов имеет тенденцию к уменьшению – это проявление недостаточности.

Моноциты развились ранее и более значительно, признаков недостаточности их нет в патогенной группе I и II-III триместров.

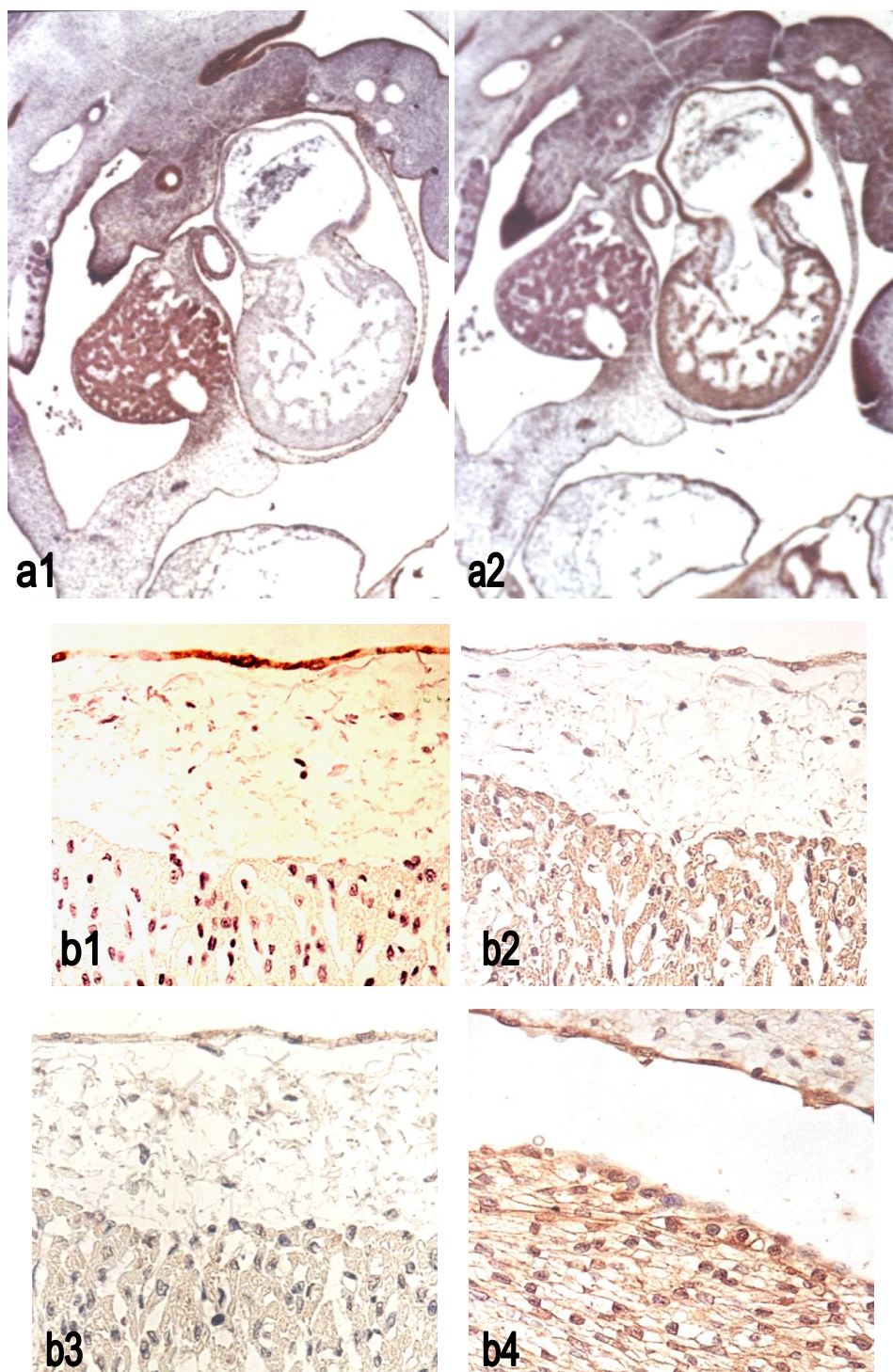


Рис.3.6. Органы эмбриона. 4 недели развития. Широкое распространение SC. **a1** – SC(+) эпикард и перикард, эпителий бронха и кишки, гонадный валик, гепатоциты, каналцы мезонефроса, мезотелий, SC(-) миокард; **a2** – тот же эмбрион: J-цепь (+) все перечисленные органы и образования, но J-цепь (+) миокард и эндокард. x40. **b1** - SC(+) эпикард, SC(-) миокард, **b2** – J-цепь (+) эпикард и миокард, **b3** - IgA(+) эпикард и миокард, **b4** - IgG(+) миокард и эндотелий клапана. x400.

3.5. Иммунная защита желчных протоков и гепатоцитов

Печень закладывается в середине третьей недели в виде отростка эпителия кишки. Клетки верхней части отростка, особенно на 4-6 неделях, интенсивно разрастаются, превращаются в гепатоциты и образуют саму печень, а из нижней части отростка образуются желчные протоки и пузырь. Как и все производные эпителия, первоначально они несут интенсивно окрашенные компоненты СИС – SC, J-цепь и иммуноглобулины. Но уже к середине второго триместра интенсивная окраска SC остается только в эпителии желчных протоков, пузыря и в гепатоцитах по периферии долек. К центру долек SC в гепатоцитах почти полностью утрачивается, но сохраняются J-цепь и иммуноглобулины. С 5-8 недель в дольках печени появляются иммунокомпетентные клетки, в том числе про-CD3(+) Т-лимфоциты и про-CD20(+) В-лимфоциты, а также разворачивается интенсивный синтез эритробластов и мононуклеарных фагоцитов. Так в печени контактируют все три системы иммунной защиты.

3.6. Защита развивающихся половых трактов, гонад и гамет

Различные неиммунные и иммунные системы участвуют в защите гамет во время их развития. Цитокины регулируют как развитие, так и регрессию яичников (Bukovsky A., 2006). Они связаны с развитием яйцеклеток и формированием фолликулов в яичниках плода человека, с функциями желтого тела. В яичниках выявлены лимфоциты (Suzuki T., et al., 1998). Макрофаги участвуют в иммунных реакциях в гонадах. (Cooper T.G., 1999).

3.6.1. Формирование иммунных систем половых органов

Предшественники герминальных клеток образуются в желточном мешке из внезародышевой энтодермы. На 5-6 неделях развития они мигрируют в гонадные валики, которые располагаются в полости тела эмбриона медиальнее мезонефрос. Рядом с каждым гонадным валиком располагаются по две пары каналов – справа и слева. Два внешних канала проходят от пронефрос, это парамезонефротические протоки Muller, в последующем они преобразуются в женские внегонадные половые органы – в две маточные трубы, которые в каудальной части сливаются, образуя матку и верхнюю часть влагалища. Два внутренних канала – мезонефротические протоки Wolff, проходят от мезонефрос. В последующем на их основе образуются мужские придатки яичек и семявыносящие протоки. При развитии мужских половых органов протоки Muller атрофируются, а при формировании женских – атрофируются протоки Wolff. Эпителий протоков Muller и Wolff еще до трансформации в половые пути содержат компоненты СИС – SC, J-цепь и иммуноглобулины. Кроме СИС, несколько позже в забрюшинной клетчатке образуются скопления лимфоцитов, преобразующиеся затем в лимфоузлы, сосуды плазмы – компоненты главной иммунной системы. Так в зоне половых органов формируются иммунные системы.

3.6.2. Формирование иммунной защиты женских гамет

Хотя пол эмбриона генетически определяется уже во время оплодотворения, трансформация гонад в яичники или в яички происходит лишь на 8 неделе развития. До этого поверхностный мезотелий гонадных валиков уже содержит SC, J-цепь и иммуноглобулины. Клетки мезотелия проникают в будущий яичник и интенсивно делятся. К подходу примордиальной яйцеклетки они преобразуются в фолликулярные клетки. Этот процесс происходит в конце I триместра. Фолликулярные клетки содержат SC, J-цепь и IgG, в меньшей степени IgA и IgM. Яйцеклетки, окруженные фолликулярными клетками, содержат J-цепь, IgG и, меньше - IgA и IgM; SC отсутствует. Так формируются примордиальные фолликулы. На 19 неделе яйцеклетки делятся, в них нет SC, но есть J-цепь и иммуноглобулины (Рис.3.7.)

К седьмому месяцу внутриутробного развития образуется около 10 миллионов примордиальных фолликулов, каждый содержит одну яйцеклетку. Размножение яйцеклеток к этому времени прекращается. Значительная часть их гибнет, к рождению девочки их остается около 2 миллионов, к половой зрелости – около 400 тысяч, стадии первичного и вторичного фолликула достигает только две тысячи, а стадии пузырька de Graaf (зрелые) и овуляции только около 400 за всю половую жизнь женщины (Ham A.W., Corm D.M., 1983). Чем обусловлена такая расточительность природы - непонятно. Хотя расход сперматозоидов несравненно больше: в 1 мл спермы их содержится более 100 миллионов.

При формировании из протоков Muller женских половых путей (маточные трубы, матка и верхняя часть влагалища), а также нижняя часть влагалища и наружные половые органы, образующиеся из эпителия кожи, сохраняют белковые компоненты СИС - SC, J-цепь, IgG, IgA и в меньшей степени IgM.

В строме гонад у плодов содержатся моноциты (3.9 ± 0.6 на $50000 \mu\text{m}^2$ среза), небольшое количество лимфоцитов CD3, CD4, CD8, CD20. Лимфоузлы тазовой области, относящиеся к общей иммунной системе, образуются во втором триместре развития.

3.6.3. Формирование иммунной защиты мужских гамет

Образовавшиеся из мезонефротического протока Wolff мужские половые пути, начиная от rete testis и далее – к vas deferens, в своем эпителии наследуют транспортный комплекс СИС - SC, J-цепь, а также иммуноглобулины. В яичках иммунная защита построена не так как в яичниках. SC, кроме rete testis во входе, отсутствуют во всех остальных клетках яичек. В эпителии прямых и извитых семенных канальцев все компоненты СИС – SC, J-цепь и иммуноглобулины вообще отсутствуют. Защита каждой гаметы сперматогенного ряда невозможна: их очень много и они мелкие. Главная линия обороны – это клетки Leydig (Рис.3.8.). Они широкой зоной окружают семенные канальцы, их цитоплазма содержит большое количество J-цепи, IgG, несколько меньше IgA и IgM. Клетки Sertoli в канальцах окрашены слабо, а сперматогенные клетки – очень слабо. Таким образом, клетки Leydig, а также Sertoli, широким слоем защищают всю массу клеток сперматогенного ряда, заполняющих прямые и извитые семенные канальцы. Это уже не СИС, а другая система иммунной защиты. Ее функция – с участием J-цепи и массы клеток Leydig и Sertoli создать вал различных иммуноглобулинов вокруг массы сперматозоидов и их предшественников. В эмбриональном периоде это иммуноглобулины беременной. В строме яичек эмбрионов имеются 3.6 ± 0.5 на

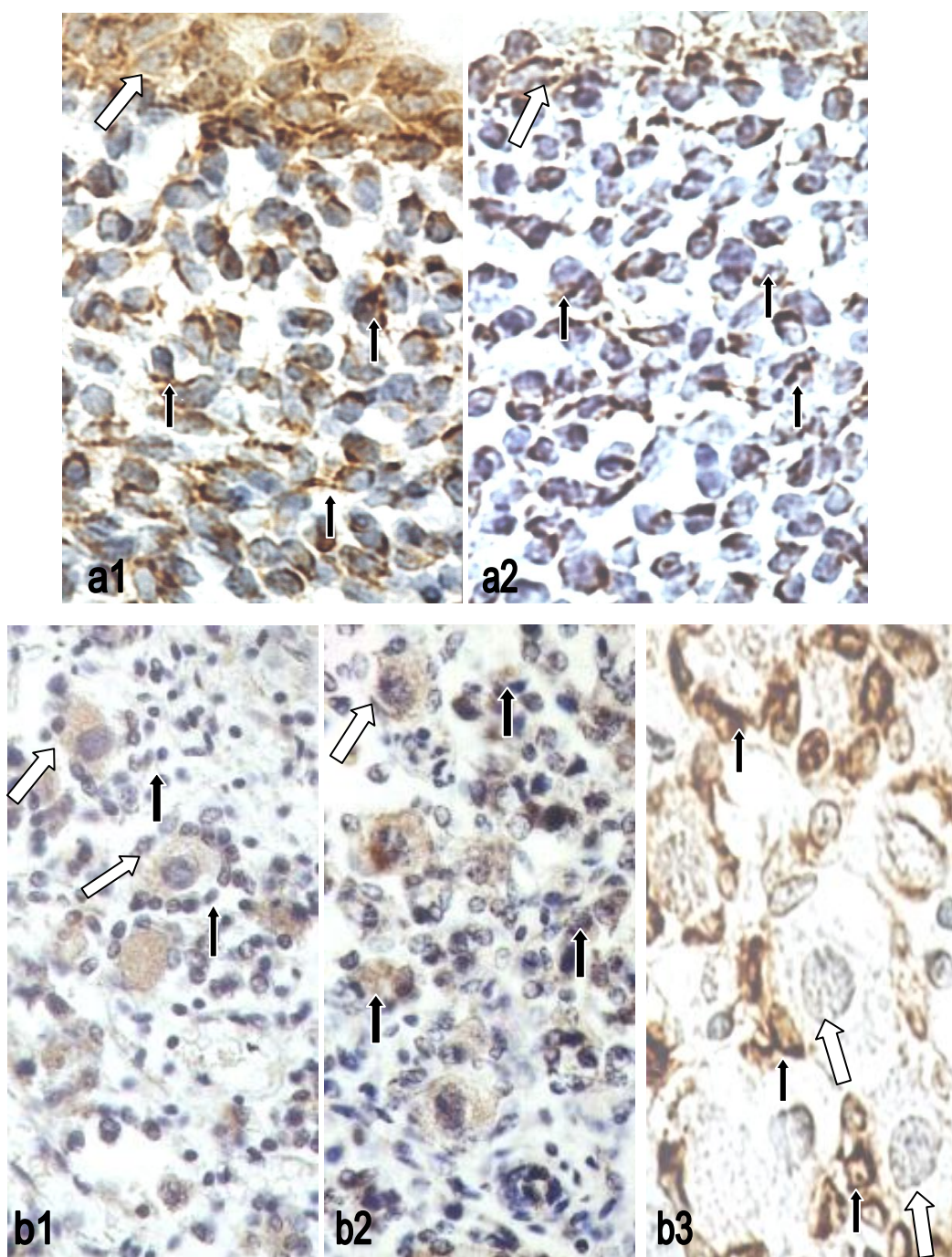


Рис. 3.7. А – гонадный валик, 5 – 6 недели развития: **a1** – мезотелий (светлые стрелки) и клетки стромы (темные стрелки) SC(+), **a2** – они же, J-цепь (+), иммуноглобулины (±). x1000. В – яичник: **b1**- 19 неделя. Яйцеклеток (светлые стрелки) еще мало, у них J- цепь (+). Фолликулярные клетки (темные стрелки) J-цепь (±), **b2** – тот же случай, в яйцеклетках IgG (+)(светлая стрелка), в некоторых фолликулярных клетках IgG (+)(темные стрелки). x400; **b3** – яичник, 23 недели. Количество яйцеклеток увеличивается, они SC (-), фолликулярные клетки SC(+)(темные стрелки). x1000.

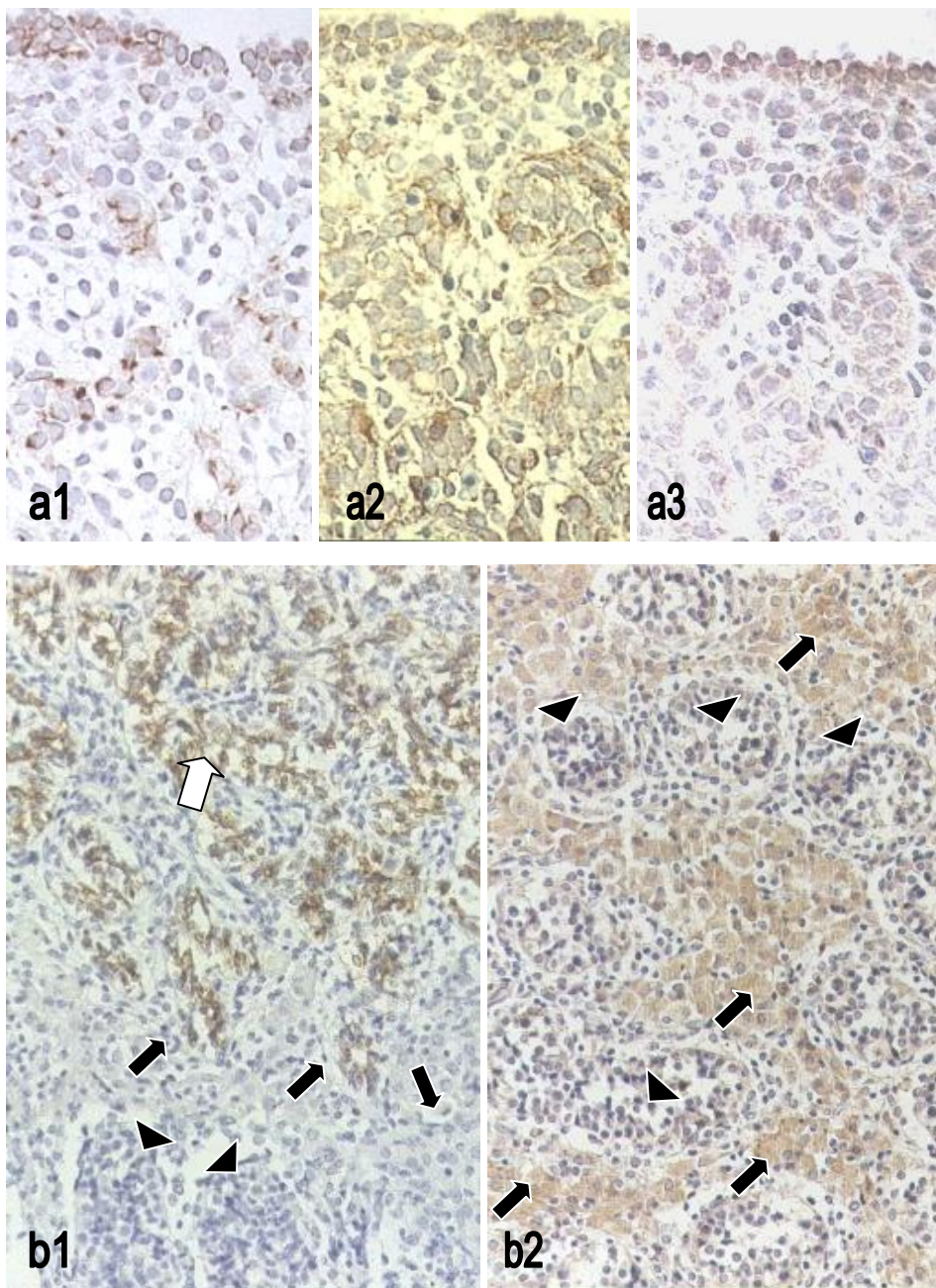


Рис.3.8. Развитие иммунных систем мужских половых органов. А – 8 неделя развития: **a1** – в гонадных валиках образуются семенные канальцы, в которых уменьшается, а затем исчезает SC, но они содержат J-цепь (**a2**) и иммуноглобулины (**a3**), в частности IgA(+). Рисунки А х400. В – 16 – 19 недели развития: **b1** – развивается сеть яичка - rete testis (светлая стрелка). Это большое количество мелких протоков, которые связываются с выносящими канальцами и далее, с семявыносящим протоком. Вся эта система, начиная с сети яичка, содержит SC, J-цепь и иммуноглобулины, и, следовательно, является СИС. **b2** - в яичнике имеются большие скопления клеток Leydig (темные стрелки). Они окружают семенные канальцы (▲), под капсулой которых находятся клетки Sertoli. Оба вида этих клеток не содержат SC, но имеют комплекс J-цепь и иммуноглобулины в значительном количестве. Рисунки В х200.

50000 μm^2 среза моноцитов, после 9 недель развития появляются единичные лимфоциты.

3.6.4. Иммунная реакция гонад на инфекции

Развитие воспалительных процессов у плодов второго триместра, чаще при хориоамнионите, распространяющемся на желудочно-кишечный тракт, по разному отражается на гонадах. Даже при развитии генерализованного процесса интенсивность окраски SC и J-цепи не меняется, IgG и IgA, если окраска снижается, то незначительно, IgM чаще дает умеренную окраску. Не изменяются иммунные окраски J-цепи и иммуноглобулинов в клетках Leydig. В яичниках иммунные окраски SC, J-цепи и иммуноглобулинов в фолликулярных клетках, J-цепи и иммуноглобулинов в яйцеклетках не изменяются. Таким образом, индивидуальная иммунная защита мужских и женских гамет может считаться достаточной.

Количество моноцитов в гонадах возрастает с большим разбросом: от 6.7 до 35.2 на 50000 μm^2 площади препарата, в среднем 20.9 ± 7.6 на 50000 μm^2 среза (сравнение с плодами без инфекций $p < 0.001$). Количество лимфоцитов изменяется незначительно.

3.7. Индивидуальная иммунная система защиты жизненно важных клеток и органов

Среди рассмотренного в данной главе состояния иммунной защиты эмбрионов и плодов человека, наряду с СИС и общей иммунной системой имеются изменения, не входящие в их рамки. СИС в онтогенезе появляется первой и уже функционирует до начала эмбрионального периода. Она защищает системы органов: пищеварительную, дыхательную, мочеполовую и отдельные органы: глаза, молочные железы, связанные с внешней средой и поэтому подвергающиеся интенсивной атаке микроорганизмов, чужих антигенов и прочих патогенов. Для СИС характерны транспортные рецепторы: полииммуноглобулиновый рецептор, он же секреторный компонент (SC) и соединяющая (joining) - J-цепь. Они обеспечивают транспорт антител-иммуноглобулинов на поверхность слизистых оболочек через эпителий, поэтому СИС иногда называют системой слизистых (mucosal immune system).

Вариантом СИС является барьерная иммунная система. Ее функция – транспорт иммуноглобулинов через межтканевые структуры, такие как плацентарный барьер, сосудистые сплетения желудочков мозга, серозные оболочки и другие ткане-тканевые связи. Рецепторы барьерной системы, транспортирующие иммуноглобулины – SC и J-цепь – те же, что и в системе слизистых оболочек. Начинают функционировать они по мере образования того или иного органа.

Общая иммунная система защищает весь организм. Ее комплекс иммунокомпетентных клеток и органов очень сложен и распространен. Формируется он с начала фетального периода.

В наших исследованиях состояния СИС в процессе органогенеза выявились различные изменения в ней. В органах, в которых сохранялись слизистые оболочки, образовались экскреторные железы или новые барьерные связи, имеются SC, J-цепь и иммуноглобулины. Другой вариант: нейробласты нервной трубки содержат SC, J-цепь и иммуноглобулины. Из нейробластов образуются клетки глии и нейроны, но в клетках глии весь комплекс СИС полностью исчезает, в нейронах исчезает только

SC, а J-цепь и иммуноглобулины сохраняются. Такие же изменения происходят при образовании передней доли гипофиза, в околощитовидных железах, островках поджелудочной железы и надпочечниках – в их предшественниках содержались SC, J-цепь и иммуноглобулины, а в образовавшихся органах SC отсутствует, но J-цепь и иммуноглобулины сохраняются. Третий вариант: миокард, образующийся из спланхнотомы, по-видимому, не содержал первоначально SC, на 3.5 неделях развития в нем следов SC нет, но J-цепь и иммуноглобулины имеются. Сложные построения отмечаются в гонадах. Пришедшие из желточного мешка, женские гаметы встречают фолликулярные клетки, содержащие SC, J-цепь и иммуноглобулины. Они окружают каждую гамету плотным кольцом. В самих будущих яйцеклетках SC отсутствуют, J-цепь и иммуноглобулины имеются. В мужских гаметах будущие миллиарды сперматозоидов защищаются еще сложнее. Клетки, содержащие SC, J-цепь и иммуноглобулины и, следовательно, относящиеся к СИС, располагаются в rete testis, закрывающей вход в яички. Далее вокруг прямых и извитых канальцев образуются крупные скопления клеток Leydig, цитоплазма которых очень интенсивно окрашивается реактивами J-цепи и иммуноглобулинов. Этот мощный барьер антител защищает полностью каждый каналец, заполненный огромным количеством мелких предшественников сперматозоидов. Клетки Sertoli, располагающиеся внутри канальцев и слабее окрашивающиеся при обработке реактивами на J-цепь и иммуноглобулины, являются дополнительной защитой.

Органов, паренхиматозные клетки которых содержат J-цепь и иммуноглобулины, но без SC, немного. Это нейроны мозга и спинальных ганглиев, миокард, гаметы, клетки главных эндокринных желез. Есть два органа, которые следует отнести к рассматриваемым, хотя они содержат SC вместе с J-цепью и иммуноглобулинами. Это щитовидная железа и печень. Тиреоциты щитовидной железы содержат этот комплекс, но это связано с особенностями ее физиологии – необходимость выводить тиреоглобулин в коллоид фолликулов, вводить его обратно и вновь выводить из тиреоцитов к прилежащим капиллярам. В гепатоцитах эмбрионов содержится SC, J-цепь и иммуноглобулины. Но постепенно SC исчезает в гепатоцитах, расположенных в центральных частях долек, и сохраняется в периферических. В этом проявляется совместная деятельность СИС и индивидуальной иммунной системы.

Все перечисленные органы обладают двумя особенностями. Они являются жизненно важными органами, их сохранность и нормальное функционирование необходимо для сохранения жизни человека. При этом у них отсутствует или очень затруднена способность к размножению (делению) паренхиматозных клеток, к восстановлению или замещению пострадавших. Гибель нейронов мозга, инфаркт участка миокарда, большинства эндокринных желез замещаются только соединительной тканью – рубцом. Удаление или гибель гонад, казалось бы, не грозят жизни человека, но гонады обеспечивают продолжение рода, всей совокупности людей. Это позволяет с полным основанием отнести гонады к стратегически важным органам. Снова и снова приходится поражаться предусмотрительности природы, создавшей механизмы локальной иммунной защиты генофонда уже в эмбриональном периоде – с самых ранних этапов формирования гонад.

Возникает вопрос – куда следует отнести рассматриваемую систему иммунной защиты отдельных клеток? Общая иммунная система организма исключается, так как она начнет формироваться позже, в эмбриональном периоде ее еще нет, ее органы и функционирование иные. Утрата SC или первоначальное отсутствие его (в гонадах, возможно – в миокарде) исключает главную функцию

СИС – защиту крупных систем и органов от постоянных атак большого количества разнообразных патогенов. Это исключает из СИС иммунную защиту отдельных клеток.

Исследуемая защита каждой отдельной, но очень важной для всего организма клетки позволяет говорить о **системе индивидуальной иммунной защиты клеток жизненно важных органов эмбрионов и плодов**. Для нее характерно присутствие J-цепи – рецептора введения иммуноглобулинов в клетку. Иммуноглобулины в эмбриональном периоде она получает от беременной через плацентарный барьер, а затем подключается фетальная общая иммунная система через кровь, лимфу или межклеточную жидкость. Во всех органах индивидуальной иммунной системы – в эндокринных железах (Табл.3.2; 3.3), в сердце, печени, гонадах, наряду с J-цепью и иммуноглобулинами с началом фетального периода появляется некоторое количество различных иммунокомпетентных клеток, в том числе В-лимфоциты, способные синтезировать иммуноглобулины. При возникновении воспалительных процессов количество этих клеток достоверно возрастает. Возможно, эти клетки и являются клеточной частью индивидуальной иммунной системы.

В органах индивидуальной иммунной системы: в зонах желудочков мозга, в поджелудочной железе, печени и особенно наглядно – в яичниках и яичках имеются проявления всех трех иммунных систем, вместе функционирующих при воспалительных процессах (Табл.3.2; 3.3; Диаграмма 3.1). Вокруг яичников центральная иммунная система представлена тазовыми лимфоузлами с комплексом иммунокомпетентных клеток, в том числе В-лимфоцитов. Затем СИС в виде SC, J-цепи и иммуноглобулинов содержатся в фолликулярных клетках, окружающих каждую яйцеклетку. А в самих яйцеклетках индивидуальная иммунная система жизненно важных клеток и органов представлена J-цепью и иммуноглобулинами.

Глава 4. Патология плацентарного барьера при раннем аборте

4.1. Плацентарный барьер

Развитие, рост и само существование эмбриона зависит от окружающего его другого организма – беременной женщины. Для того, чтобы осуществлять обмен веществ – получать то, что ему необходимо и избавляться от того, что ему не нужно – у эмбриона образуются особые структуры – ворсины хориона. Хорион первым вступает в контакт с окружающей средой – с децидуальной тканью, кровью беременной в лакунах, с различными иммунокомпетентными клетками в этих структурах и разнообразными гормональными и другими биологически активными веществами. Хорион и его производные – различные виды трофобласта, первыми вступают в защиту зародыша и, к сожалению, первыми терпят поражение. Патологические процессы сначала развиваются в хорионе и в трофобласте, а в самом эмбрионе чаще проявляются следствия нарушения функции плацентарного барьера.

Нередко понятие «плацентарный барьер» упрощается. Под ним понимают только ткани, находящиеся между кровью беременной в лакунах и кровью эмбриона в капиллярах ворсин. Эти ткани барьера – синцитиотрофобласт, цитотрофобласт, их базальная мембрана, строма ворсины, базальная мембрана и эндотелий капилляра ворсины. Не упоминаются моноциты (клетки Кашенко-Ноббауэра), которые часто располагаются между трофобластом и капиллярами ворсин, то есть в рамках плацентарного барьера. Мало внимания уделяется видам трофобласта – кроме синцитиотрофобласта и цитотрофобласта также группы пролиферирующих клеток на концах ворсин, инвазивному трофобласту в децидуальной ткани и трофобласту, выстилающему лакуны. Все они в определенной степени отличаются друг от друга по функциям и свойствам. Пролиферирующий трофобласт очень активно размножается из цитотрофобласта на ворсинах, а затем перемещается в децидуальную ткань, где превращается в инвазивный трофобласт. Эти клетки, кроме создания ложа для бластоцисты, участвуют в перестройке сосудов, образуя полости для крови беременной – лакуны (Evain-Biron D., 2001), и исполняют роль эндотелия этих сосудов. Они способны к фагоцитозу (Red-Horse K. et al., 2004). Продолжением плацентарного барьера являются хорион и амнион. Через них, например, проходят иммуноглобулины к плоду (Cleveland M.G. et al., 1991), а от плода к беременной проходит моча с отходами, например, непрямой билирубин при гемолитической болезни плода (Gurevich P. et al., 1995).

С другой стороны организм беременной реагирует на появление антигенов зародыша. Уже в период имплантации макрофаги концентрируются в базальную часть плаценты – место контакта с зародышем, и в частности с его инвазивным трофобластом. Макрофаги беременной активно фагоцитируют (Bulmer J.N., Johnson P.M., 1984) и выделяют туморнекротизирующий фактор альфа - $TNF\alpha$, он же FasLigand (Chen H.L. et al., 1991; Todt J.C. et al., 1996), способный вызвать апоптоз трофобласта (Yui I. et al., 1996). Высказывается мнение, что макрофаги

децидуальной ткани фагоцитируют аллоантигены зародыша в случае их несовместимости (Abrahams V.M. et al., 2004).

В период ранней беременности (5-я неделя) и в последующем по всей децидуальной ткани располагается огромное количество натуральных киллеров (NK, CD56+), а Т-лимфоциты (CD3+) образуют группы. Остальные виды лимфоцитов рассеяны одиночными клетками (Slukvin I.I. et al., 2004). Причины накопления такого большого количества NK и CD3 лимфоцитов неясны. Предположение, что в этом проявляется кооперация NK матери с инвазивным трофобластом в процессе перестройки кровоснабжения при внедрении зародыша в децидуальную ткань (Parham P., 2004) не представляется достаточно обоснованным.

Наряду с морфологическими изменениями, имплантация зародыша сопровождается значительными биохимическими сдвигами. Трофобласт выделяет membrane cofactor protein (MCP, CD45+), decay acceleration factor (DAF, CD55+) и протектин (CD59+), которые влияют на компоненты комплемента (Weetman A.P., 1999). Сама децидуальная ткань выделяет большое разнообразие цитокинов, также участвующих в регуляции иммунного ответа (Saito S., 2000). Эти реакции, направленные в основном на снижение возможности конфликта беременная – эмбрион, снижает общую иммунореактивность беременной, делает ее более доступной для вирусных и бактериальных инфекций.

В последние годы уделяется большое внимание преэклампсии. Это тяжелый гестоз, который чаще возникает у первобеременных – подростков или женщин старше 35 лет. Вследствие спазма кровеносных сосудов внезапно возникает нарушение мозгового кровообращения, гипертония, протеинурия. В патологии преэклампсии много неясного, но намечается связь с нарушениями, вызванными инвазивным трофобластом (Genbacev O., et al., 1999; Reister F. et al., 1999; 2001; Burk M.R. et al., 2001; Gross J.G., 2003; Cetin J., et al., 2004; Fisher S.J., 2004; Austgulen R., 2004).

Тромбоз межворсинчатых пространств с внутриматочной задержкой развития (IUGR) является частой причиной смерти эмбрионов и плодов, 27-42% ранних абортс связывается с этим нарушением (Beer A.E., Kwak J., 2000; Сидельникова В.М., 2002; Viero S., et al., 2004). Встречается он при самых различных заболеваниях матери: при болезнях соединительной ткани (Ackerman J., et al., 1999), малярии (Crocker J.P., et al., 2004), сахарном диабете (Mayhew T.M., Sampson C., 2003B), у курящих женщин (Mayhew T.M., et al., 2003A; Vogt Isaksen C., 2004), у женщин, живущих в высокогорной местности (Mayhew T.M., et al., 2002) и при многих других причинах (Cetin J., et al., 2004). Перивиллезный тромбоз часто осложняет искусственное оплодотворение донорами (Perni S.C., et al., 2005). IUGR связывают с антифосфолипидным синдромом Hughes – тромботической васкулопатией различной локализации у взрослых, а также с IUGR с ранними (до 9 недель) абортами, повторяющимися при последующих беременностях. Такое разнообразие причин IUGR показывает, что он не является определенным заболеванием, а лишь симптомом различных заболеваний.

При IUGR, кроме тромбоза межворсинчатых пространств отмечаются значительные повреждения синцитио- и цитотрофобласта на больших участках или в виде мелких очагов (Милованов А.П. и др., 2005). Они связываются с изоляцией трофобласта ворсин фибрином от крови беременной и прекращением обмена (Svensson A.M., et al., 2004). Также высказывается мнение, что первичным является повреждение трофобласта ворсин, а затем на поврежденных участках происходит свертывание фибрина крови (Mayhew T.M., Barker B.L., 2001).

Апоптоз ворсин, главным образом синцитиотрофобласта, отмечается в случаях нормального развития эмбриона, но он резко учащается в случаях спонтанных аборт (Kokawa K., et al., 1998). Jerzak M. и Bischof P. (2002) детально рассматривают апоптоз в первом триместре с точки зрения поддержания привилегий в противостоянии беременная – эмбрион как нормальный физиологический процесс в течение беременности.

В настоящее время ранний аборт с тромбозом межворсинчатых пространств остается важной и нерешенной проблемой. Не определены причины его возникновения, патология повреждений (Chaddha V., et al., 2004) и повторность этих аборт. В результате не разработаны диагностика, профилактика и лечение этого заболевания (Sun C.C., et al., 2002).

Столь же важной и нерешенной проблемой является ранний аллогенный конфликт беременная – зародыш. Возможность его возникновения не вызывает сомнения. По-видимому, в основном он развивается на границе двух организмов – в зоне плацентарного барьера. Однако все остается неизвестным: генетический фактор, несовместимость с которым вызывает аллогенную реакцию беременной; проявления этого конфликта – клинические, иммунные и патологические; причины гибели зародыша. Это не позволяет разработать диагностику, профилактику и лечение этого далеко не редкого заболевания.

Все приведенное показывает, что процессы, вызывающие ранние аборты, происходят не только в плацентарном барьере, как его сейчас понимают – от крови беременной до крови зародыша. По-видимому, его границы следует расширить за счет структур, участвующих в защите двух организмов – зародыша и беременной.

4.2. Материалы и методы исследования

Мы провели комплексное исследование тканей, полученных при ранних абортах, в том числе плацентарного барьера – его эмбриональной части (ворсины хориона), провизорных органов (хорион, амнион, желточный мешок), тканей самого эмбриона, и частей беременной (децидуальная ткань и межворсинчатые лакуны с кровью беременной). Обследовался весь поступающий материал ранних аборт (3.5-8 недель развития), поступавший из четырех клиник Израиля. Попутно обследовались также аборты второго триместра. Учтены все поступившие случаи за исключением небольшого количества пороков развития и хромосомных нарушений. Обследовано 129 случаев, в том числе 82 – в эмбриональном периоде (Диаграмма 4.1.) и 47 – в фетальном.

4.2.1. Материалы

Эмбрионы разделены на 5 групп на основании клинических, детальных патоморфологических и прочих данных (Табл.4.1.). В группу 1 (контрольная – 18.3%) вошли случаи трубной беременности, разрыва рога двурогой матки, искусственные аборты по медицинским или социальным показаниям и несколько случаев клинически неясных причин, в которых детальное обследование не выявило воспалительных или патологических иммунных процессов. В группу 2 включены случаи, где имелаась задержка развития (IUGR) вследствие значительного тромбообразования вокруг ворсин хориона. Первоначально в этой группе было 23 (28%) эмбриональных случаев, но после детального обследования они были перемещены в группы 3В и 4 (см. Главу 4.4.), а в группе 2 осталось только 2 (2.4%) эмбриональных случая и 3 фетальных, всего 5 (3.9%) (см. Табл. 4.1). В группу 3А

(15.9%) вошли случаи восходящей инфекции родовых путей с децидуитом и распространением на оболочки – хориоамнионит с инфицированием околоплодных вод, в обход плацентарного барьера. В случаях группы 3В (11.0%) инфекция из децидуальной ткани распространяется на кровь межворсинчатых пространств и далее на ворсины хориона или непосредственно на якорные ворсины, соединенные с децидуальной тканью. В этих случаях гематогенное распространение сопровождается поражением капилляров концевых ворсин, сосудов стволовых ворсин и сосудов эмбриона с возможным менингоэнцефалитом и воспалением желудочков мозга – вентрикулитом. Группу 4 (52.4%) составили случаи с повторными выкидышами и распространенными поражениями, отличающимися значительным, иногда множественным апоптозом трофобласта и других тканей эмбриона. Плодов в группе 4 не было. Подобные изменения связываются некоторыми исследователями с аллогенным конфликтом беременной и зародыша (Jerzak.M., Bischof P., 2002; Bulla R., et al, 2003).

Таблица 4.1. Количество исследованных аборт эмбрионального и раннего фетального периодов в различных группах

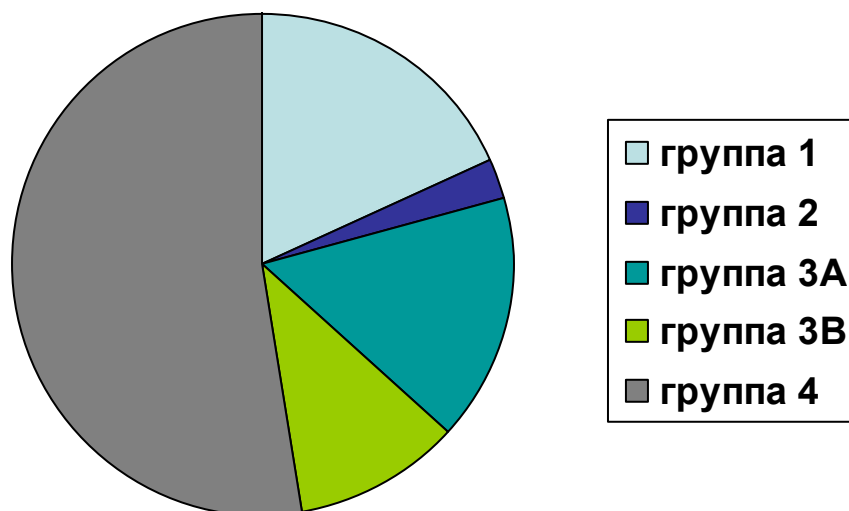
Периоды		группы					Всего
		1	2	3А	3В	4	
Эмбриональный 3.5-8 недель	количество	15	2	13	9	43	82
	%	18.3	2.4	15.9	11.0	52.4	100
Фетальный 9-22 недели	количество	18	3	22	4	0	47
	%	38.3	6.4	46.8	8.5	0	100
Всего	количество	33	5	35	13	43	129
	%	25.6	3.9	27.1	10.1	33.3	100

Объяснение в тексте

4.2.2. Методики

Функциональное состояние органов, тканей и всего организма связано и проявляется в патоморфологических, иммуногистохимических и морфометрических изменениях. Мы применили соответствующий комплекс исследований. Использовались: общая окраска гематоксилин-эозином, методы van Gieson (выявление фиброза), Gram (выявление микрофлоры), Perls (соединения железа, гемосидерин). Использованы иммуногистохимические методы (с учетом Dobbs D., 2006): авидин-биотиновый комплекс и пероксидазный метод с коммерческими маркерами (антитела) для выявления SC, J-цепи, IgG, IgA и IgM, моноцитов (CD68), промоноцитов (CD14), Т-лимфоцитов (CD3), Т-лимфоцитов хелперов (CD4), цитотоксических лимфоцитов (CD8), натуральных киллеров NK (CD56 и отчасти CD3), В-лимфоцитов (CD20 и CD79A), общего антигена лейкоцитов (лимфоцитов, моноцитов и др. - CD45LCA), общий антиген - эндотелия, макрофагов, NK и др. (CD31), рецепторов IgG-Fc-гамма RIII (CD16) и Fc гамма RII(CD32), интерлейкина IL2Rα (CD25), миеломоноцитарных и лимфоидных стволовых клеток и эндотелия капилляров (CD34), активированных, готовящихся к делению клеток (Ki67), участвующих в апоптозе Fas, FasLigand (FasL), bcl-2, p53.

Диаграмма 4.1. Распределение исследованных случаев эмбрионального периода беременности (3.5-8 недель).



Группа 1 – контрольная, случаи без инфекций и патологических иммунных процессов (18.3%).

Группа 2 – множественный перивиллезный тромбоз без инфекции (2.4%).

Группа 3А – острая восходящая инфекция родовых путей, осложненная децидуитом, хориоамнионитом и заглатыванием эмбрионом инфицированных околоплодных вод (15.9%).

Группа 3В – та же инфекция, распространяющаяся через кровь лакун в ворсины и кровеносную систему эмбриона (11.0%).

Группа 4 – ранний аллогенный конфликт беременной и эмбриона (52.4%).

Апоптоз определялся АорТаg-пероксидазной реакцией TUNEL. Гладкомышечные клетки стромы ворсин выявляли десмином, трофобласт (в том числе инвазивный) очень четко выявляется реактивом для SC, а также реактивом для цитокератина 8/18. Контролем качества иммуноокрасок клеток эмбриона и его оболочек служили окраски тех же клеток беременной в децидуальной ткани и в крови межворсинчатых пространств на одном и том же слайде. Некоторые сложности имелись в различии моноцитов и промоноцитов. Они сходны размерами, наличием фагоцитарных частиц и других структур. Кластеры CD14, CD33, CD111 и другие положительны для моноцита и промоноцита, CD68 положителен для моноцита, но отрицателен для промоноцита. Сравнение двух слайдов CD68 и CD14 одного препарата позволяет различать их. Все клетки эмбрионов, включая мононуклеарные фагоциты, отрицательны при обработке CD45 LCA. Это позволяет отличить их от лейкоцитарных клеток и крови лакун беременной, которые CD45LCA(+) и таким образом предопределить вероятность клеточной иммунной реакции беременной против эмбриона.

4.2.3. Морфометрические методы

Число мононуклеарных фагоцитов (макрофаги беременной, моноциты и промоноциты эмбриона) и количество разных лимфоцитов, а также число клеток, содержащих различные иммуноглобулины, некоторые рецепторы и биологически активные компоненты подсчитывались на площади $50000 \mu\text{m}^2$ среза с окулярной сеткой Olimpus при увеличении $\times 400$ на 20-50 полях. Числа положительно окрашенных моноцитов и промоноцитов пересчитывались в % к общему числу

мононуклеарных фагоцитов. Среднее количество фаголизосом в срезах мононуклеарных фагоцитов и инвазивных трофобластов определялось на 100-150 клетках при иммерсионном увеличении в микроскопе Olimpus BX60, соединенного с цифровой цветной видеосистемой Nakafugi при увеличении x1500, и пересчитывалось на среднее число их на срезе. Количество тех или иных изменений хориальных ворсин определялось при увеличении x200 или x400 в % к общему числу ворсин на 20-30 полях зрения препарата. Среднее число капилляров ворсин и их изменений определялось на 100-120 ворсин, окрашенных CD31 и CD34 при увеличении x200 или x400. Все подсчеты выполнены автором.

4.3. Группа 1, контрольная.

Плацентарный барьер без бактериальных и аллогенных повреждений

В этой группе рассматривается состояние ворсин хориона при раннем аборте, а также децидуальной ткани и межворсинчатых лакун беременной – 15 случаев эмбрионального периода (3.5-8 недель), а также 18 плодов (9-22 недели).

4.3.1. Ворсины хориона

Приведенные в таблице 4.2. морфометрические данные демонстрируют нормальное состояние ворсин хориона в периоде 3.5-8 недель развития: большое количество капилляров, заполненных эритроблантами (76.4%), наличие небольшого (4.8%) количества аваскулярных ворсин и среднего количества сосудов на одну ворсину в срезе (5.3). Отсутствуют признаки патологических процессов: тромбоза капилляров, некроза, обызвествления, фиброза стромы. Апоптоз очень редок – в одиночных клетках не более 1.8% ворсин, реакция TUNEL положительна на одиночные клетки. Данные таблицы 4.3. подтверждают физиологичность состояния сосудов ворсин: с возрастанием срока развития зародыша растет среднее количество капилляров на одну ворсину, уменьшается число отечных и аваскулярных ворсин, васкуляризация ворсин близка к завершению на 10-11 неделе.

Трофобласт на плацентарном барьере представлен пятью видами клеток. На ворсинах хориона 3 вида: синцитиотрофобласт, цитотрофобласт и группы пролиферирующего трофобласта. Вневорсинчатый трофобласт имеет два вида: инвазивный трофобласт в децидуальной ткани и трофобласт, покрывающий поверхность лакун, заполненных кровью беременной (Рис.4.1.). В эмбриональном периоде синцитиотрофобласт образует слой многоядерных клеток. Под ним находится слой кубических клеток – цитотрофобласт. Пролиферирующий трофобласт образует на концах некоторых ворсин группы клеток. В срезе каждой группы насчитывается много клеток. Цитотрофобласт и, особенно, пролиферирующий трофобласт активно делятся – пролиферируют. Это выявляется реакцией Ki67. Положительная реакция определяет, что клетка готовится к делению или делится. На 3.5-6 неделях пролиферация более активна, чем на 7-8 неделях развития (см. Таблицу 4.4.). Иногда на препаратах видно, как группы клеток пролиферирующего трофобласта соприкасаются с материнской частью плаценты и распространяются в децидуальной ткани, превращаясь в инвазивный трофобласт (Рис.4.2.). С созреванием зародыша необходимость в инвазивном трофобласте

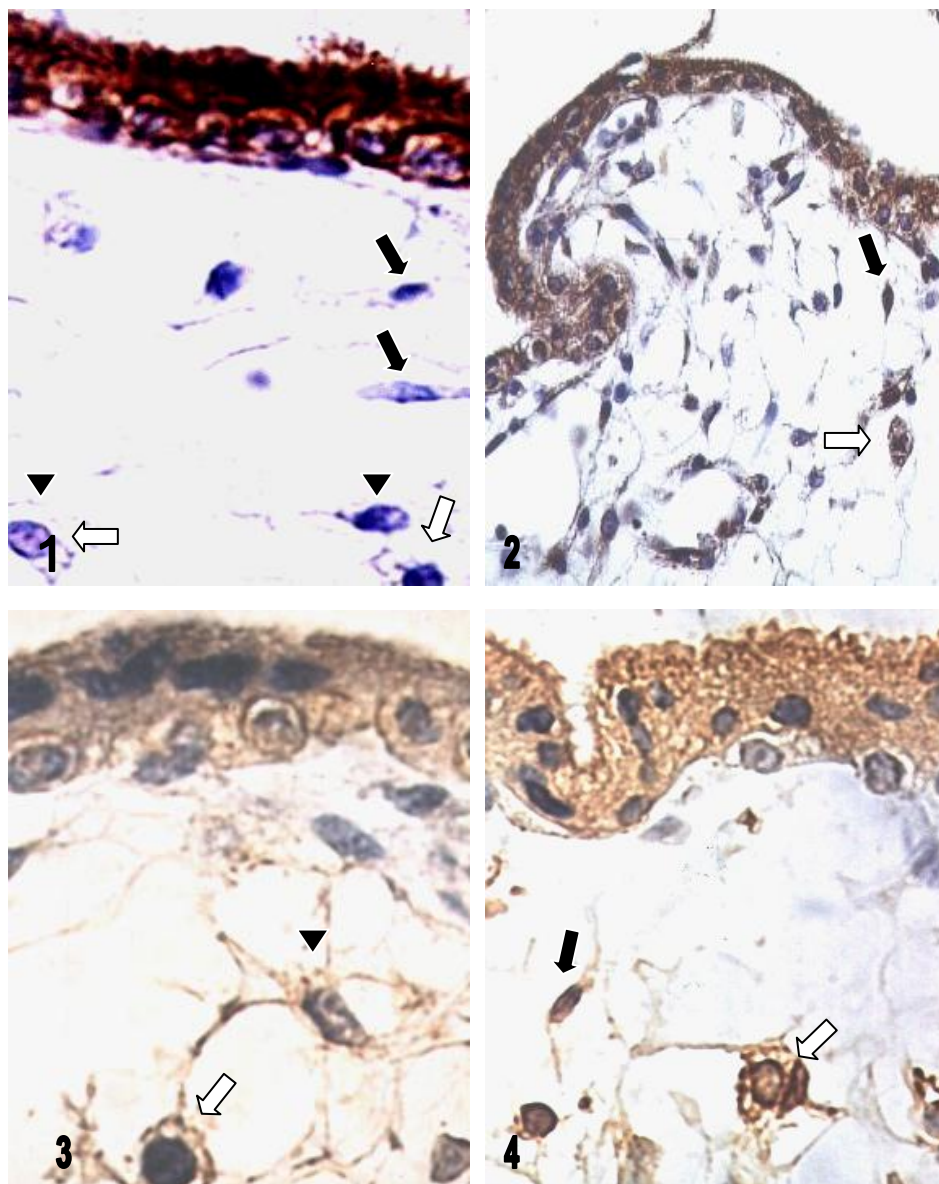


Рис.4.1. Эмбрионы 3.5-5 недель развития без инфекций или других патологий. На поверхности ворсин в норме два слоя: синцитиотрофобласт с микроворсинами, под ним цитотрофобласт. Их главная функция – транспорт к эмбриону или от эмбриона. 1 – SC(+), 2 – J-цепь(+) участвуют в этой функции, 3 – транспортируется IgA, 4 – транспортируется IgG. Подлежащая строма несколько отечна. В ней на расстоянии от трофобласта видны моноциты (светлые стрелки) с малым количеством фагосом и фаголизосом, капилляры, немного фибробластов (▲) и одиночные миоциты (темные стрелки) Рис.1, 3, 4 x1000, рис. 2 x400

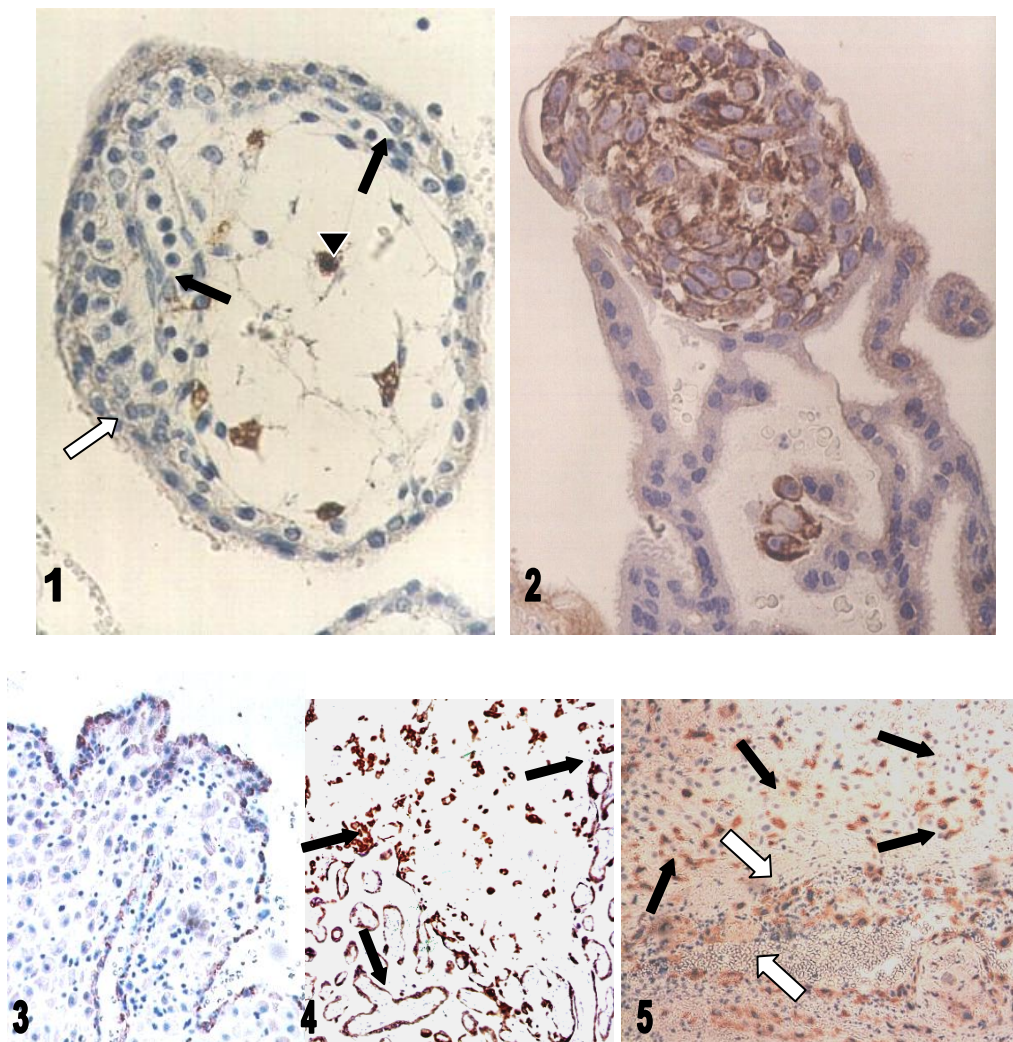


Рис.4.2. Проплиерирующий трофобласт. Группа 1, развитие 3.5 – 5 недель, нормальные ворсины. 1 – ворсина: в цитоплазме немного CD68(+) моноцитов и CD69(±) промоноцитов (▲), капилляры (темные стрелки), синцитио- и цитотрофобласт в норме, в одном месте трофобласт образует несколько слоев (светлая стрелка). 2 – на ворсине образуется узел SC(+) пролиерирующего трофобласта. 3 – децидуальная ткань беременной, ее лакуны покрыты слоем трофобласта, реакция IL2Rα-CD25(+). 4 – небольшие узлы пролиерирующего трофобласта сходит с ворсин в децидуальную ткань (темные стрелки), где их клетки становятся инвазивным трофобластом. Они четко выявляются SC(+). 5 – два вида вневорсинчатого трофобласта: покрывающий лакуны (светлые стрелки) и инвазивный, распространяющийся в децидуальной ткани (темные стрелки). Реакция с кератином AE1-AE2. 1, 2 x400, 3, 5 x200, 4 x100.

уменьшается и поэтому активность пролиферативного трофобласта падает. Пролиферативные способности этих видов клеток различны. Синцитиотрофобласт не пролиферирует (Mazur M.T., Kurman R.J., 1965): реакция Ki67 во всех исследованных группах отрицательна. Это позволяет считать, что их многоядерность является следствием слияния одноядерных клеток цитотрофобласта, а не деления своих ядер. Цитотрофобласт умеренно пролиферирует, а пролиферирующий трофобласт при соприкосновении с децидуальной тканью («ядерные ворсины») переходит в нее и превращается в инвазивный трофобласт.

Таблица 4.2. Состояние ворсин хориона у эмбрионов при различных патологических процессах

Состояние ворсин	Группы				
	1	2	3А	3В	4
Нормальные капилляры (%)	76.37±2.72	22.13±4.86 ^a	60.01±4.1 ^{ab}	18.5 ± 6.81 ^{ac}	28.53 ± 2.97 ^{ac}
Облитерация капилляров (%)	18.83 ± 1.63	56.7 ± 5.0 ^a	33.25 ± 2.6 ^{ab}	62.6 ± 7.76 ^{ac}	56.73 ± 3.33 ^{ac}
Аваскулярные ворсины (%)	4.82 ± 0.28	21.17 ± 1.41 ^a	6.71 ± 0.83 ^{ab}	18.9 ± 1.28 ^{abc}	14.74±1.31 ^{abc}
Тромбоз капилляров (%)	0	0	0	10.3 ± 2.87 ^{abc}	12.53±1.31 ^{abc}
Среднее количество сосудов на ворсину	5.29 ± 0.83	2.19 ± 0.31 ^a	3.92 ± 0.34 ^b	2.12 ± 0.11 ^{ac}	2.07 ± 0.68 ^{ac}
Отечные ворсины (%)	26.91 ± 3.01	30.49 ± 8.07	39.97 ± 5.12	37.48 ± 3.11	47.12 ± 3.35 ^{ad}
Кровоизлияния в ворсины (%)	0.77 ± 0.51	2.77 ± 1.38	2.63 ± 0.43 ^a	1.21 ± 0.53 ^c	1.22 ± 0.21 ^c
Некроз ворсин (% случаев)	0	15.64 ± 4.56 ^a	0 ^b	33.33±1.32 ^{abc}	0 ^{bd}
Петрификация ворсин (% случаев)	0	2.43 ± 1.81 ^a	0	22.22±0.3 ^{abc}	0 ^d
Фиброз ворсин (% случаев)	0	10.54 ± 1.99 ^a	0 ^b	22.22 ± 0.8 ^{abc}	0 ^{bd}
Апоптоз капилляров (% ворсин)	1.52 ± 0.04	единичный	2.03 ± 0.51	9.26 ± 2.36 ^{abc}	18.53±4.01 ^{abc}

a, b, c, d - достоверные отличия ($p < 0.05 - 0.001$) последующих групп к группам 1, 2, 3А, и 3В.

Объяснения даны в тексте.

Иммунохимические реакции не всегда сходны в различных видах трофобласта. В процессе транспорта иммуноглобулинов SC чаще положителен в синцитиотрофобласте или в цитотрофобласте ворсин, иногда – в обоих, а изредка только в апикальных микроворсинках синцитиотрофобласта. При реакции на SC клетки в скоплениях пролиферирующего трофобласта окрашиваются (Рис.4.2.). Очень интенсивно окрашиваются SC-инвазивный и выстилающий лакуны варианты трофобласта в децидуальной ткани. J-цепь чаще выявляется во всех видах трофобласта. Расположение IgG и IgA может изменяться, что связано с миграцией

их из одного ряда клеток в другой. IgM в группе 1 обнаруживается только в единичных случаях. Рецепторы IgG-Fc gamma RIIIA (CD16) и Fc gamma RII (CD32) положительны в трофобласте ворсин. Рецептор интерлейкина-2 (CD25) положителен во всех видах трофобласта. Белые регуляторы реакции апоптоза Fas и bcl-2 обнаруживаются иногда в апикальных микроворсинках синцитиотрофобласта. FasL и p53 отмечаются изредка, малыми участками или отсутствуют. Апоптоз или некроз мелких участков трофобласта встречается 1.2 ± 0.7 на $50000 \mu\text{m}^2$.

Таблица 4.3. Состояние нормальных сосудов (группа 1) ворсин хориона в эмбриональном и раннем фетальном периодах

	Эмбриональный период		Фетальный период 9 – 22 недели
	3.5 – 5 недель	6 – 8 недель	
Нормальные сосуды (%)	72.64 ± 3.75	78.61 ± 5.71	79.19 ± 7.92
Спазм сосудов (%)	21.81 ± 3.04	18.31 ± 3.26	19.44 ± 2.85
Аваскулярные ворсины (%)	5.54 ± 0.75	3.08 ± 0.82^a	1.37 ± 0.51^a
Отечные ворсины (%)	35.03 ± 3.78	21.48 ± 2.42^a	$15.44 \pm 1.48^{a,b}$
Среднее число капилляров в ворсине	4.83 ± 0.86	5.82 ± 0.56	6.58 ± 0.92

^{a, b} - достоверные ($p < 0.05 - 0.001$) отличия от предыдущих столбцов

Клетки стромы ворсин хориона. В строме ворсин имеется немного моноцитов и незначительное количество промоноцитов (Таблица 4.5). В эмбриональном периоде в ворсинах хориона отсутствуют все виды лимфоцитов, NK, гранулоциты, все CD45LCA-положительные клетки, в том числе отсутствуют все клетки беременной. Моноциты эмбрионов, в противоположность макрофагам беременной в децидуальной ткани, CD45LCA отрицательны и несколько слабее окрашиваются CD68. Промоноциты CD68 отрицательны и CD14 положительны. В мононуклеарных фагоцитах отсутствует SC, имеются рецепторы для IgG – Fc gamma RIII (CD16) и Fc gamma RII(CD32), J-цепь, IgG, IgA, очень редко IgM (Рис.4.1) При соответствующей иммунной окраске иммуноглобулины располагаются в капсуле клетки в виде цветных капелек в количестве IgG – 15.92 ± 1.52 , IgA – 10.89 ± 1.18 и в некоторых случаях IgM – 1.93 ± 0.99 на срезе одной клетки (см.Рис.6). Это иммунные комплексы, в которых рецепторы соединяются с иммуноглобулинами за Fc-фрагмент, или Fab-фрагменты выступают наружу и способны к соединению со специфическим антигеном (Simister N.E.,1998; 2003). В таком состоянии моноцит проходит в капилляр и разносит иммуноглобулины по организму эмбриона. Кроме иммуноглобулинов на поверхности капсул фагоцитов, они имеются в фаголизосомах цитоплазмы. Их среднее количество в срезе моноцитов приведено в таблице 4.9 и диаграмме 4.2. В мононуклеарных фагоцитах и в эндотелии капилляров выявляется рецептор IL2R α (CD25+). Фагоциты умеренно пролиферируют (Ki67+ клеток $13.2 \pm 1.7\%$, см. Табл.4.5). Участвующие в апоптозе Fas, FasLigand, bcl 2, p53 не выявляются, апоптоз моноцитов 1.52 ± 0.04 на $50000 \mu\text{m}^2$.

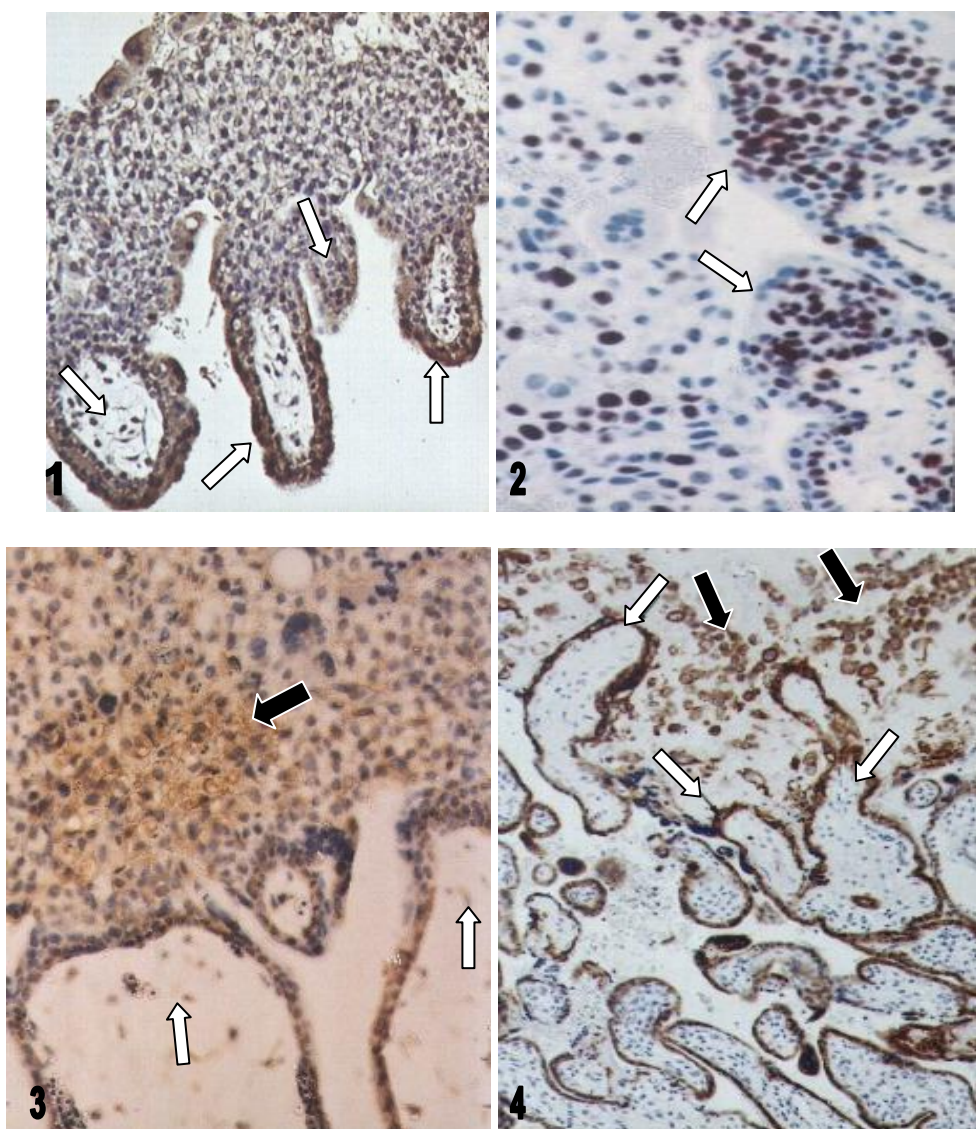


Рис.4.3. Проллиферативный трофобласт. **1** - в 4 соседних ворсинах (светлые стрелки) произошла интенсивная пролиферация цитотрофобласта, **2** - пролиферативный трофобласт (светлые стрелки) бурно размножается: Ki67(+) клеток составляет 70-80%, слева Ki67(+) моноциты или цитотрофобласт ворсин. **3** - несколько соседних ворсин с пролиферативными участками (светлые стрелки) вошли в контакт с децидуальной тканью («якорные ворсины») и пролифераты переходят на нее (окраска CD25 - IL2R α)(темная стрелка) - группы красных клеток. **4** - ворсины (светлые стрелки) с трофобластом в децидуальной ткани - это уже инвазивный трофобласт: он интенсивный фагоцит с SC(+) (темные стрелки). 1, 2, 3 x200, 4 x100.

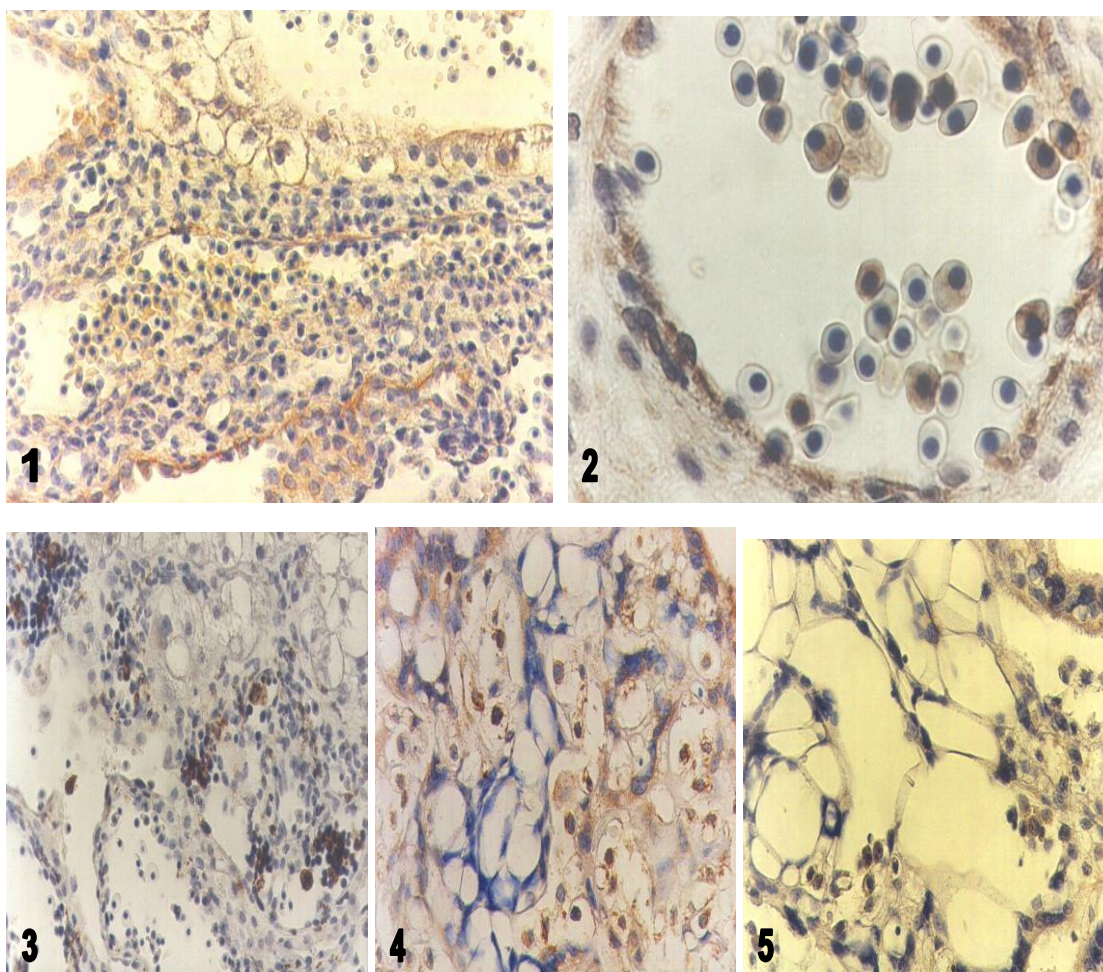


Рис.4.4. Желточный мешок: Группа 1, 3.5 – 5 недель развития. **1** – обильные скопления эритробластов, часть из них с IgA(+), **2** – более четко эритробласты с IgA(+) видны при $\times 1000$. Эти эритробласты не образуются в желточном мешке, а поступают в небольшом количестве из общего кровотока эмбриона (глава 5.3, таблица 5.1). **3** – в сосудах желточного мешка имеются моноциты CD68(+) и промоноциты CD14(+), также содержащие IgA(+). **4** – в желточном мешке на 4 неделе развития имеется значительное количество CD3(+) про-Т-лимфоцитов. **5** – имеется также немного CD20(+) клеток из группы В-пролимфоцитов. Препараты 1, 3, 4, 5 - $\times 400$, 2- $\times 1000$.

Таблица 4.4. Интенсивность пролиферации разных видов трофобласта и эндотелия капилляров ворсин в эмбриональном периоде по группам

Количество (Ki67+) пролиферирующих клеток (%)	Срок развития (недели)	Группа 1	Группа 3А	Группа 3В	Группа 4
в синцитиотрофобласте	3.5 - 8	0	0	0	0
в цитотрофобласте	3.5 - 6	69.19±8.34	31.9±3.36 _a	6.84±0.89 _{ab}	11.12±1.63 _{abc}
	7 - 8	30.6±2.29	24.81±1.98	14.16±2.91 _{ab}	16.78±1.4 _{ab}
Количество групп пролиферирующего трофобласта (% ворсин)	3.5 - 6	29.39±3.41	9.56±1.12 _a	3.63±0.24 _{ab}	8.62±0.84 _{ac}
	7 - 8	32.41±3.17	8.23±0.72 _a	8.53±1.48 _a	6.65±0.32 _{ab}
в пролиферирующем трофобласте	3.5 - 6	76.1±6.53	85.94±6.39	81.02±5.85	56.59±4.62 _{abc}
	7 - 8	34.54±3.94	20.55±2.31 _a	56.3±5.79 _{ab}	49.31±5.12 _{ab}
в инвазивном трофобласте	3.5 - 8	76.34±1.3	13.23±2.44 _a	11.94±2.32 _a	12.1±2.13 _a
Эндотелий капилляров ворсин	3.5 - 8	26.5±2.4	13.67±1.42 _a	6.71±1.82 _{ab}	1.96±0.84 _{abc}

^{a, b, c} - достоверные отличия ($p < 0.05-0.001$) последующих групп к группам 1, 3А, и 3В. В нормальных условиях (группа 1) размножение клеток цитотрофобласта ворсин в первой половине эмбрионального периода (3.5 – 6 недель) вдвое больше, чем во второй половине (7 – 8 недель). Это отражает продолжающееся созревание ворсин. Одинаковое количество групп пролиферирующего трофобласта в обеих частях эмбрионального периода показывает продолжающийся рост инвазивного трофобласта. Состояние пролиферации трофобласта в группах 3А, 3В и 4 рассмотрены в тексте. Группа 2 не включена из-за малого количества случаев.

В эндотелии капилляров ворсин хориона содержится J-цепь, иногда отмечается слабая иммунная окраска SC (в 20-40% случаев). Количество пролиферирующих (Ki67+) клеток эндотелия $26.5 \pm 3.9\%$. Часть эритробластов в капиллярах ворсин содержит J-цепь и иммуноглобулины. Это означает, что эритробласты, наряду с моноцитами, осуществляют транспорт иммуноглобулинов (см. Таблицы 5.1, 5.2 и 5.3; Рис.4.4.2).

В строме ворсин имеется небольшое количество фибробластов и единичные гладкомышечные клетки, при окраске десмином. В промежуточной части ворсин их 5-10, а в стволовой части видны значительные пучки.

Желточный мешок (см.Рис.4.4).

4.3.2. Плацента беременной

В I-ом и начале II триместра плацента беременной состоит из децидуальной ткани и межворсинчатого пространства – лакун. Вместе с ними находятся ткани эмбрионального происхождения – инвазивный трофобласт и трофобласт, покрывающий лакуны.

Децидуальная ткань образована крупными светлыми децидуальными клетками, богатыми гликогеном и липидами. Они не содержат SC, J-цепь и иммуноглобулины, не окрашиваются CD68, но они и эпителий желез децидуальной ткани положительны CD25 (IL2R α). В децидуальной ткани имеются различные виды иммунокомпетентных клеток (Таблица 4.6.). Большинство из них в группе 1 содержатся в небольшом количестве – 2 - 4 клетки на площади $50000 \mu\text{m}^2$

Таблица 4.5. Мононуклеарные фагоциты ворсин хориона у эмбрионов при различных патологических процессах

Количество		Группа 1	Группа 2	Группа 3А	Группа 3В	Группа 4
Мононуклеарные фагоциты (на 50000 μm^2)		7.85 $\pm$ 0.73	6.67 $\pm$ 0.65	15.78 $\pm$ 1.86 _{ab}	7.2 $\pm$ 2.36 _c	6.48 $\pm$ 0.57 _c
из них промоноцитов (на 50000 μm^2)		0.16 $\pm$ 0.01	0.13 $\pm$ 0.01	2.07 $\pm$ 0.17 _{ab}	2.15 $\pm$ 0.09 _{ab}	3.51 $\pm$ 0.42 _{abcd}
Промоноциты (% от числа фагоцитов)		2.04 $\pm$ 0.34	2.01 $\pm$ 0.41	18.47 $\pm$ 3.85 _{ab}	25.61 $\pm$ 3.42 _{ab}	54.17 $\pm$ 3.61 _{abcd}
Пролиферирующие (Ki67+) фагоциты (%)		13.16 $\pm$ 1.67	7.92 $\pm$ 0.85 _a	9.92 $\pm$ 1.06	6.13 $\pm$ 0.73 _{ac}	6.45 $\pm$ 0.98 _{ac}
Интерлейкин IL2Rα (CD25+) (% фагоцитов)		57.0 $\pm$ 1.32	-	13.13 $\pm$ 4.13 _a	13.68 $\pm$ 2.91 _a	10.86 $\pm$ 1.48 _a
Фагоциты, содержащие рецепторы: (% фагоцитов)	Ј-цепь	73.86 $\pm$ 2.77	72.57 $\pm$ 3.11	79.45 $\pm$ 4.0	77.54 $\pm$ 2.71	67.84 $\pm$ 3.35 _{cd}
	Fc gamma RII(CD32)	82.29 $\pm$ 2.01	10.21 $\pm$ 1.19 _a	24.47 $\pm$ 1.65 _{ab}	25.44 $\pm$ 1.47 _{ab}	10.58 $\pm$ 2.32 _{acd}
	Fc gamma RIII(CD16)	80.16 $\pm$ 3.75	25.0 $\pm$ 3.12 _a	18.4 $\pm$ 2.01 _a	27.51 $\pm$ 1.55 _{ac}	12.74 $\pm$ 1.57 _{abcd}

a, b, c, d - достоверные отличия ($p < 0.05-0.001$) последующих групп от групп 1, 2, 3А, 3В. Объяснения в тексте. Уменьшение содержания IL2A (CD25), Fc gamma RII(CD32) и Fc gamma RI(CD16) связаны с увеличением количества промоноцитов, не содержащих этих рецепторов.

препарата, только CD3-положительные лимфоциты и натуральные киллеры (NK) находятся в большом количестве – несколько десятков клеток на указанной площади препарата. Но распределение различных видов клеток в децидуальной ткани не одинаково. Т-лимфоциты (CD3, CD4, CD8), NK и макрофаги более или менее равномерно выявляются в обеих зонах децидуальной ткани – в компактной, где они непосредственно контактируют с инвазивным трофобластом эмбриона, и спонгиозной, несколько удаленной от них. Эти клетки участвуют в клеточном общем иммунном ответе, они сами выполняют иммунные реакции и располагаются вблизи объекта реакции. В-лимфоциты и плазматические клетки участвуют в гуморальном иммунном ответе, их задача – получить информацию о чужих антигенах от макрофагов, выработать иммуноглобулины и отправить их в вольный полет – в контакт с чужим объектом клетки не вступают. Поэтому в компактной зоне CD20 и CD79A клетки встречаются одиночные на десятки полей зрения ($\times 400$), а в спонгиозной зоне их много и имеются фолликулы – скопления многих десятков клеток. Следует подчеркнуть, что плазмоциты в децидуальной ткани являются клетками беременной. В макрофагах CD16, CD32, CD45LCA положительны. IL2R α (CD25) выявляется в части лимфоцитов, а также в эпителии желез. В отдельных случаях в децидуальной ткани имеются мелкие свежие кровоизлияния. Спиральные артерии без изменений. Микрофлора не выявляется.

Инвазивный трофобласт в децидуальной ткани состоит из кубических или вытянутых клеток с одним темным ядром, многоядерные клетки типа синцитиотрофобласта редки. Трофобласт, соприкасаясь с децидуальной тканью,

распространяется вглубь ее тяжами или отдельными клетками. Его клетки содержат SC, J-цепь и иммуноглобулины в виде фаголизосом в малом количестве (Таблица 4.9 и Рис.4.2.). SC окрашивается очень интенсивно, что позволяет легко отличить инвазивный трофобласт от децидуальных клеток и макрофагов. Интенсивность пролиферации инвазивного трофобласта (Ki67+) очень велика (Табл.4.4.), а апоптоз (TUNEL и гематоксилин-эозин) встречается в 0.7-1.9 клеток на $50000 \mu\text{m}^2$, что примерно соответствует данным Chan C.C., et al.(1998). Фагоцитоз инвазивного трофобласта макрофагами столь же редок.

Межворсинчатые пространства на гистологических препаратах свободны или содержат немного крови, свертки фибрина отсутствуют. В крови содержится немного иммунокомпетентных клеток (10-20 на $50000 \mu\text{m}^2$, см. Табл.4.7.). Клетки трофобласта, покрывающие лакуны – кубические, содержат SC, J-цепь и иммуноглобулины.

Таблица 4.6. Иммунокомпетентные клетки в децидуальной ткани беременной при различных патологических процессах на 3-8 неделях (количество клеток на $50000 \mu\text{m}^2$ при х400)

		Группа 1	Группа 2	Группа 3А	Группа 3В	Группа 4
Т-лимфоциты (CD3)		28.86± 2.24	31.83± 6.88	21.15± 2.38	30.25±3.43	25.42± 4.5
Т-хелперы (CD4)		2.23± 0.7	2.08± 0.47	1.84± 0.23	1.15± 0.32	1.38± 0.45
Т-цитотоксические (CD8)		3.29± 0.51.	2.48± 0.29	4.33± 0.86	4.23± 1.3	2.63± 0.5
Натуральные киллеры (CD56)		48.55±7.04	68.67± 7.09	56.39± 7.34	47.8± 6.71	48.22±7.42
В-лимфоциты (CD20)	спонгиозная зона	8.2± 1.81	0.39± 0.18 a	1.96± 0.42 a	0.52± 0.12 a	4.01± 0.81 a b c d
	компактная зона	0.15±0.01	-	0.07± 0.01 a	0.17± 0.05	0.32± 0.04 a c d
Плазмоциты (CD79A+, CD20-)	спонгиозная зона	5.05±1.33	-	3.39± 0.61	10.64±1.39 a c	6.04± 1.36 d
	компактная зона	0.24± 0.02	-	0.09± 0.02 a	2.07± 0.39 a,c	0.43± 0.04 a,c,d
Макрофаги (CD68)		2.3±0.46	2.5± 0.41	5.62± 1.24 a	8.19± 1.72 a,b	4.2± 0.71 a,b,d
Лейкоциты (CD45LCA)		48.85±3.25	10.86±2.43 a	17.92± 1.86 a,b	16.78±3.54 a	20.45± 2.97 a,b

a, b, c, d - достоверные отличия ($p < 0.05-0.001$) последующих групп к группам 1, 2, 3А, и 3В. Различные иммунокомпетентные клетки децидуальной ткани реагируют на патологические воздействия не однотипно. Т-лимфоциты (CD3, CD4, CD8, а также NK), обычно участвующие в клеточных иммунных реакциях, при бактериальных инфекциях (группы 3А и 3В) и аллогенном конфликте (группа 4), не изменяются, когда происходит гуморальная иммунная реакция. Клетки гуморальных реакций CD20 количественно значительно уменьшаются в группах 3А и 3В и менее в группе 4 из-за превращения их в плазмоциты. Число их резко возрастает в группе 3В, не изменяется в группе 3А и мало возрастает в группе 4. Количество макрофагов увеличивается в группах 3А, 3В и 4, но вдвое значительно в группе 3В. Это показывает, что антигенное воздействие на беременную при бактериальной инфекции гораздо сильнее, чем в случаях раннего аллогенного конфликта.

4.3.3. Заключение по группе 1

В случаях, входящих в группу 1, отсутствуют признаки воспалительных процессов, некроза, фиброза и обызвествления ворсин. Апоптоз отмечается в

единичных клетках не более чем в 1.8% ворсин. В процессе нормального развития во II по сравнению с I триместром достоверно уменьшается количество ворсин с отечной стромой и аваскулярных ворсин, имеется тенденция к увеличению среднего количества капилляров на одну ворсину. Моноциты, клетки цитотрофобласта и особенно пролиферирующего и инвазивного трофобласта имеют выраженную тенденцию к пролиферации. Через трофобласт ворсин происходит транспорт иммуноглобулинов беременной, а именно IgG, слабее IgA и в отдельных случаях слабо IgM.

Таблица 4.7. Иммунокомпетентные клетки беременных в межворсинчатой крови при различных патологических процессах на 3-8 неделях после оплодотворения (количество клеток на 50000 μm^2)

	Группа 1	Группа 2	Группа 3А	Группа 3В	Группа 4
Т-лимфоциты (CD3)	4.48 ± 0.3	3.87 ± 0.62	3.8 ± 0.29	3.42 ± 0.27 _a	4.41 ± 0.93
Т-хелперы (CD4)	2.46 ± 0.41	2.07 ± 0.94	1.55 ± 0.26	0.57 ± 0.2 _{a c}	0.59 ± 0.17 _{a c}
Т-цитотоксические (CD8)	2.1 ± 0.27	2.48 ± 0.28	2.25 ± 0.79	3.41 ± 0.81	1.71 ± 0.41
Натуральные киллеры (CD56)	0.85 ± 0.22	2.17 ± 0.21 _a	1.69 ± 0.35	1.48 ± 0.22 _b	0.85 ± 0.08 _{b d}
В-лимфоциты (CD20+, CD79+)	1.68 ± 0.27	0.56 ± 0.21 _a	1.03 ± 0.2	1.25 ± 0.11 _b	1.43 ± 0.35 _b
Плазмциты (CD20-, CD79+)	1.86 ± 0.2	-	1.21 ± 0.29	2.22 ± 0.2 _c	2.81 ± 0.31 _{a c}
Макрофаги (CD68)	1.51 ± 0.4	0.92 ± 0.31	5.84 ± 1.31 _{a b}	4.84 ± 0.84 _{a b}	0.99 ± 0.39 _{c d}
Лейкоциты (CD45LCA)	5.6 ± 1.01	4.07 ± 0.91	12.0 ± 1.87 _{a b}	9.23 ± 1.28 _{a b}	2.49 ± 0.25 _{a c d}

a, b, c, d - достоверные отличия ($p < 0.05-0.001$) последующих групп к группам 1, 2, 3А, и 3В.

Изменения материнских иммунокомпетентных клеток в децидуальной ткани и в крови лакун в основном аналогичны, хотя количество клеток в децидуальной ткани обычно значительно больше. Также не изменяется количество Т-лимфоцитов во всех группах, но число хелперов (CD4) в группах 3В и 4 уменьшается. Не изменяется количество В-лимфоцитов и плазматических клеток. Увеличивается количество макрофагов в группах бактериальных инфекций (3А и 3В).

В ворсинах, наряду с моноцитами, имеется около 2% промоноцитов. Моноциты и промоноциты, а также инвазивный трофобласт способны к фагоцитозу. Около половины моноцитов, а также все виды трофобласта и эндотелий капилляров ворсин содержат рецепторы IL2 α . Учитывая отсутствие в тканях ворсин эмбриона лимфоцитов, синтезирующих IL2R α , можно полагать, что он транспортирован от беременной. Это подтверждает также, что только часть моноцитов эмбриона содержит IL2R α . Моноциты эмбриона CD45LCA отрицательны, в то время как одноклеточные макрофаги беременной положительны. Это связано с тем, что моноциты несколько менее зрелые, чем макрофаги.

В децидуальной ткани (часть плацентарного барьера беременной) имеются все виды Т- и В-лимфоцитов, NK, плазмциты, макрофаги. При этом CD4(+) хелперы, CD8(+) цитотоксические Т-лимфоциты и макрофаги представлены очень малым количеством – 0.6-3 клетки на 50000 μm^2 площади препарата. И, напротив,

CD3(+) Т-лимфоциты, CD56(+) NK и суммарная окраска лимфоцитов CD45LCA(+) выявляются по 30-50 клеток на указанной площади слайда. CD20 В-лимфоциты и CD79А плазмоциты занимают промежуточное положение: в компактной зоне децидуальной ткани они единичны, но в спонгиозной зоне содержатся по 8-10 клеток на 50000 μm^2 площади препарата, образуя нередко группы – фолликулы по 20-50 и более клеток. Перечисленные виды лейкоцитов в крови беременной межворсинчатых лакун в случаях группы 1 содержатся в небольшом количестве (0.85-5.6 на 50000 μm^2).

Проведенные морфологические, иммуногистохимические и морфометрические обследования группы 1 показывают, что состояние плацентарного барьера, его беременной и зародышевой части соответствует нормальному развитию в эмбриональном периоде. Происходящие изменения (увеличение количества капилляров в ворсинах, уменьшение числа отечных и аваскулярных ворсин, интенсивная пролиферация некоторых видов клеток) являются физиологическими. Признаки патологических процессов отсутствуют.

4.4. Группа 2. Нарушение плацентарного барьера вследствие отложения фибрина на ворсинах эмбриона

В эту группу вошли ранняя задержка развития (IUGR) и антифосфолипидный синдром Hughes. Заболевание выражается в отложении фибрина на ворсинах хориона и в спиральных артериях децидуальной ткани. Эти изменения приводят к нарушению функций плацентарного барьера и к повторным самопроизвольным абортam. Однако, причины IUGR и повторных абортов остаются неясными. Узость знаний об этом заболевании отмечалась неоднократно (Cetin J. et al., 2004; Chaddha V., et al., 2004).

В нашем материале эти случаи первоначально составили 23 эмбриона (28%), что соответствует данным литературы (Kutteh W.H., 1999; Сидельникова В.М., 2002; Adolfsson A., Larrson P.G. 2006). Предварительное морфологическое исследование показало отложение фибрина вокруг групп ворсин или небольших комков фибрина на отдельных ворсинах. Имелись повреждения синцитиотрофобласта и в меньшей степени – цитотрофобласта. При некоторых крупных повреждениях на поверхности фибрина имелись небольшие скопления CD45LCA - положительных разнообразных лейкоцитов, не контактирующих с трофобластом. Спиральные артерии в ряде случаев не имели изменений. Ткани эмбрионов во всех случаях отсутствовали, ткани плодов сохранились только в двух случаях.

Последующие углубленные исследования позволили выявить подлинные причины заболеваний, вызвавших ранние аборты. В пяти случаях имелось выраженное воспаление децидуальной ткани с некрозом, лейкоцитарным окружением и наличием микрофлоры (в четырех случаях – кокков и в одном – палочек). Микробы распространялись на некоторые ворсины, образуя в них участки некроза стромы и клеток (не апоптоза), и далее через капилляры ворсин на вены пуповины к эмбриону. Приведенные изменения позволили перенести эти 5 случаев в группу 3В – инфекции с гематогенным распространением в зоне плацентарного барьера (см. главу 4.6.)

В других 16 случаях признаки инфекции отсутствовали. Имелись поражения – апоптоз некоторых участков синцитио- и цититрофобласта, эндотелия и эритробластов капилляров и моноцитов ворсин. В сохранившихся моноцитах, заменивших их промоноцитах и в инвазивном трофобласте в децидуальной ткани имелось очень большое количество фаголизосом, содержащих IgG, IgA и IgM. Эти и

другие изменения позволили отнести эти 16 случаев в 4 группу – вероятный аллогенный конфликт беременной и эмбриона (более подробно см. глава 4.7.).

Остались 2 случая эмбрионального (6 и 8 недель развития) и 3 – фетального (12, 14 и 21 недели) периодов (Таблица 4.1., Диаграмма 4.1.).

4.4.1. Ворсины хориона

Количество ворсин резко снижено: на всех препаратах оно колеблется от 6 до 18. Только в 22.13% ворсин имелись функционирующие капилляры с эритроблантами, остальные ворсины не содержали капилляров, они были спазмированы или облитерированы (Табл.4.2.). Среднее количество капилляров на одну ворсину 2.19 ± 0.31 (меньше, чем в группе 1 $p < 0.01$). 30.49% ворсин отечны, 15.64% некротизированы, 12.97% фиброзированы и обызвествлены.

Трофобласт. Синцитиотрофобласт в участках, покрытых фибрином, отсутствует или представляет бесструктурную массу; здесь иногда выявляются p53 и FasLigand, микрофлора отсутствует. В остальных местах трофобласта Fas и bcl2 положительны, более интенсивно в апикальных частях. В цитотрофобласте реакция Ki67(+) $14.65 \pm 1.94\%$ (снижена почти в 2 раза), в инвазивном трофобласте $30.88 \pm 4.22\%$ по сравнению с группой 1 также уменьшена вдвое. SC в синцитио- и цитотрофобласте слабо положителен, J-цепь положительна, CD25 (рецептор IL2R α) слабо положителен в синцитиотрофобласте и положителен в цитотрофобласте. Рецепторы CD16 и CD32 положительны.

Клетки стромы ворсин. Количество мононуклеарных фагоцитов несколько уменьшено по сравнению с группой 1 ($p > 0.1$), количество промоноцитов на единицу площади измерения и их процент от фагоцитов не отличается от группы 1. Пролиферируют фагоциты (Ki67+) меньше, чем в группе 1 ($p < 0.05$). Моноциты и промоноциты содержат фаголизосомы с IgG, IgA и IgM в незначительном количестве (Табл.4.9., Диаграмма 4.2.). CD16(FcRIII α) и CD32(FcRII α) – рецепторы IgG в моноцитах встречаются гораздо меньше ($p < 0.001$), чем в группе 1 (Табл.4.5.).

4.4.2. Плацента беременной

В децидуальной ткани в случае аборта на 6 день патологические изменения не отмечены, при абортах второго триместра (12-21 недели) в двух случаях имелись мелкие участки некроза с незначительной инфильтрацией нейтрофилами, микрофлора отсутствует. Во всех случаях многие спиральные артерии облитерированы вследствие пролиферации эндотелия.

Комплекс иммунокомпетентных клеток в децидуальной ткани приведен в таблице 4.6., существенных отклонений от группы 1 не отмечено, только В-лимфоциты (CD20) и сборная реакция на лейкоциты (CD45LCA) уменьшены значительно по сравнению с группами 1, 3А, 3В и 4.

В фибрине, покрывающем ворсины, во всех случаях имеются лейкоциты (4.3 ± 0.3 на $50000 \mu\text{m}^2$ площади среза, в группе 1 их содержание 4.48 ($p > 0.1$)).

Кровь межворсинчатых пространств содержит различные виды иммунокомпетентных клеток, отличающихся от группы 1 лишь большим количеством NK ($p < 0.001$) и меньшим количеством CD20 В-лимфоцитов ($p < 0.001$) (см. Табл.4.7.). Фибрин в межворсинчатых пространствах имеется во всех случаях.

4.4.3. Заключение по группе 2

Тромбоз межворсинчатых пространств плацентарного барьера является частой патологией в эмбриональном периоде (32.9% наблюдавшихся нами случаев см. Табл.4.8.). Он не является одним определенным заболеванием – IUGR, антифосфолипидным синдромом или каким-либо другим. Часто этот тромбоз является осложнением раннего аллогенного конфликта, когда действие антитела беременной разрушает трофобласт и другие структуры плацентарного барьера. В результате образуются тромбы на поверхности ворсин. Другой причиной тромбообразования на ворсинах бывают местные воспалительные процессы. Мы еще вернемся к рассмотрению этих процессов в группах 3В и 4.

Таблица 4.8. Тромбообразование в межворсинчатых пространствах при различных патологических процессах на 3.5 – 8 неделях развития

	Группа 1	Группа 2	Группа 3А	Группа 3В	Группа 4	Общее число
Всего случаев	15	2	13	9	43	82
Случаи с тромбообразованием	0	2	4	5	16	27
%	0	100	30.77	55.55	37.21	32.93

Объяснение в разделе 4.4.3.

Те пять случаев, которые остались в группе 2, ко времени аборта не имеют признаков аллогенного конфликта или серьезного воспаления. Изменения во всех этих 5 случаях – у эмбрионов и плодов II триместра были однотипны. Нарушение плацентарного барьера могли быть следствием облитерации большого количества спиральных артерий децидуальной ткани. Но сама облитерация спиральных артерий может быть следствием воспалительного процесса с последующими некрозом ворсин, фиброзом, обызвествлением и уменьшением количества ворсин. Среднее количество капилляров на одну из оставшихся ворсин снизилось до 2.19 ± 0.31 в группе 2 при среднем количестве капилляров в группе 1 – 5.29 ± 0.43 ($p < 0.001$). Естественно, что такое резкое уменьшение объема плацентарного барьера привело к гибели зародышей. Снизились также пролиферативная активность цито- и инвазивного трофобласта и количество моноцитов, содержавших рецепторы CD16 (Fc gamma RIII) и CD32 (Fc gamma RII). Но вместе с тем, в сравнении с группой 1 количество моноцитов ворсин и иммунокомпетентных клеток децидуальной ткани и межворсинчатой крови в группе 2 существенно не изменилось. Это, а также отсутствие микрофлоры и других признаков исключает возможность острых и других патологических иммунных процессов ко времени аборта, но вполне возможно, что в недалеком прошлом воспаление было. Случаи облитерации одиночных или небольшого количества спиральных артерий в группе 1 не наблюдались, но во всех других группах они встречались.

Сомнительно, что наблюдавшиеся нами 5 случаев (3.88%) могут быть отнесены к антифосфолипидному синдрому Hughes. Более вероятно предположение, что изменения ворсин – некроз с последующим фиброзом и петрификацией, снижение количества В-лимфоцитов в децидуальной ткани и в крови лакун и увеличение там же количества НК, облитерация спиральных артерий могли быть остаточным проявлением ранее перенесенного бактериального воспалительного процесса, представленного в главах 4.6 и 5.7 (группа 3В). На это указывает также значительное сходство почти всех показателей состояния ворсин хориона в группах 2 и 3В, приведенные в таблице 4.2

Проблемы диагностики и лечения антифосфолипидного синдрома, IUGR, PR и другие подобные ситуации остаются неясными (Sun C.C. et al., 2002; Cetin I., et al., 2004). Вполне оправданными представляются решения семинара «Fetal & Neonatal Medicine», что «применение гепарина для лечения IUGR в будущем остается дискуссионным» (Chaddha V. et al., 2004), (см. раздел 4.1.).

4.5. Группа 3А. Восходящая инфекция родовых путей, распространяющаяся через хорион и амнион в обход плацентарного барьера

Этапы развития восходящей инфекции в группе 3А (Рис.4.5 и 4.6) отражаются в морфологических изменениях. Бактериальная инфекция, проникая в полость матки во время беременности, вызывает воспаление децидуальной ткани (децидуит), а затем распространяется на хорион, тесно соприкасающийся с ним амнион (хориоамнионит) и в околоплодные воды. Эмбрион заглатывает инфицированные воды в пищеварительную трубку, а по мере развития дыхательных органов аспирирует также и в них.

В группу 3А вошли 13 случаев ранних аборт (5-8 недели) и 22 – второго триместра (Табл.4.1.). Ткани эмбрионов сохранились в 8 случаях, плоды - в 12 случаях.

4.5.1. Ворсины хориона

Морфометрические изменения ворсин (Табл.4.2.) умеренные по сравнению с группой 1: несколько уменьшено число нормальных ворсин с функционирующими капиллярами, увеличен спазм капилляров и количество аваскулярных ворсин. Но крупные поражения ворсин - некроз, фиброз, обызвествления и массовый апоптоз – отсутствуют.

Трофобласт ворсин во многих местах лишен синцитиотрофобласта, иногда видны участки казеозного некроза. Нередки мелкие некрозы цитотрофобласта, пролиферирующего трофобласта ворсин и инвазивного трофобласта в децидуальной ткани, а также резко снижается количество групп пролиферативного трофобласта и их размеры (Табл.4.4., Рис.4.5). Состояние SC, J-цепи, IgG и IgA в трофобласте не отличается от содержания их в группе 1, но происходит транспорт IgM: он выявляется в трофобласте, в моноцитах и стромах части ворсин (Табл.4.9.). Повышена фаголизосомная активность инвазивного трофобласта (Рис.4.8.3).

В хорионе и амнионе имеются участки некроза, на слайдах иногда виден их контакт с воспаленной децидуальной тканью (Рис.4.7). В участках некроза - микрофлора, в основном кокки. Апоптоз изредка одиночный или мелкие группы.

Клетки стромы ворсин хориона. Количество мононуклеарных фагоцитов увеличено вдвое (Табл.4.5.) за счет моноцитов и промоноцитов; количество последних возрастает более чем в 10 раз. Количество пролиферирующих (Ki67+) моноцитов уменьшено незначительно, но рецепторы Fc gamma RII (CD32), Fc

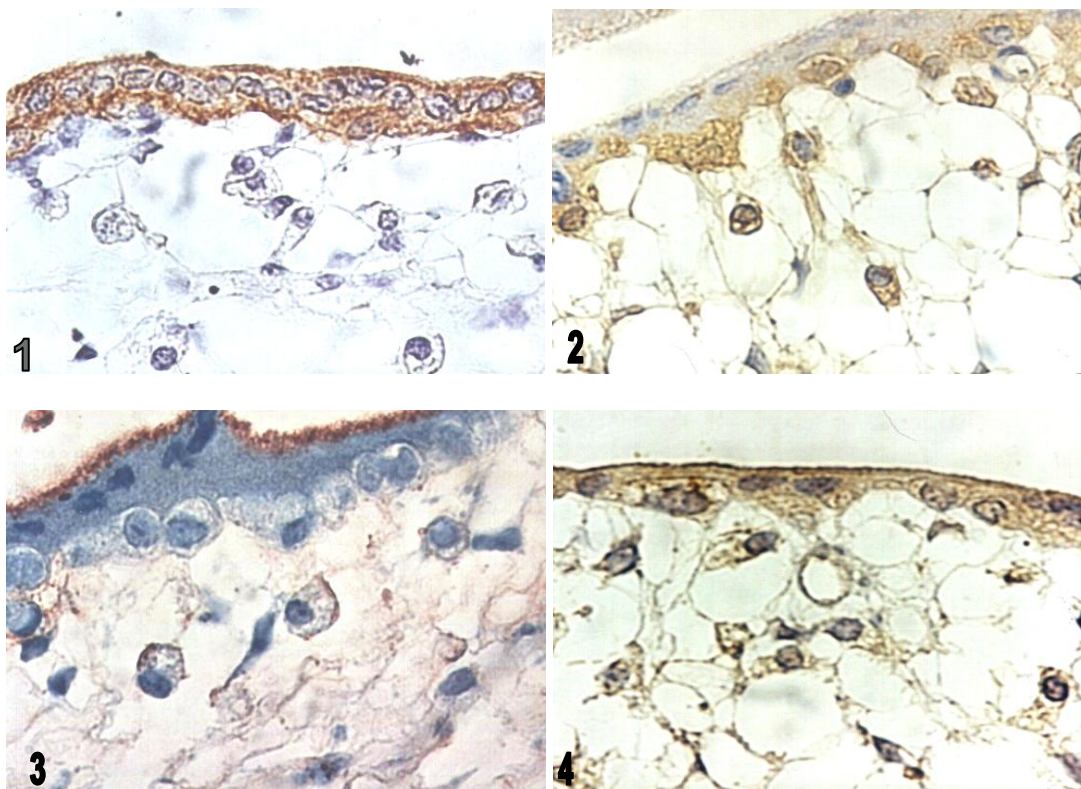
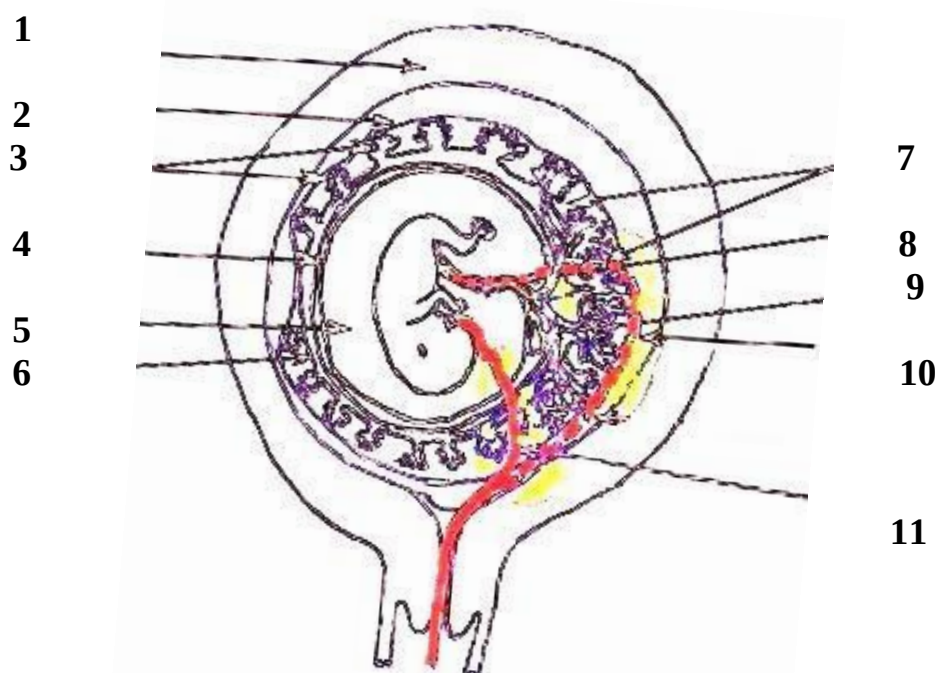


Рис.4.5. Состояние ворсин в группе 3А на 5 – 8 неделях развития. Синцитиотрофобласт отсутствует в 1, 2, 3, 4. В 3 имеется участок казеозного некроза. В 2, 3, 4 некротизированы одиночные клетки цитотрофобласта. 1 – SC(+), 2 - J-цепь(+), 3 - IgG(+) только в микроворсинах трофобласта, 4 – IgA(±). Моноуклеарные фагоциты располагаются ближе к трофобласту, количество фаголизосом повышено. Строма несколько отечна. Все x1000.

gamma RIII (CD16), а также рецепторы интерлейкина-2 α (CD25) резко уменьшаются ($p<0.001$). Фагоцитарная активность мононуклеарных фагоцитов в отношении IgG и IgA не изменилась (Таблица 4.9.), а IgM увеличилась ($p<0.01$) вследствие повышения транспорта IgM через плацентарный барьер. SC в фагоцитах не выявляется, J-цепь имеется, Fas, FasLigand, bcl2 и p53 отсутствуют. Количество фибробластов - $2.03\pm0.48/50000 \mu m^2$, гладкомышечные клетки и волокна стромы ворсин не изменены. Все виды иммунокомпетентных клеток беременной CD3-, CD4-, CD8 – положительные Т-лимфоциты, CD56(+) NK клетки, CD20(+), CD79A(+) В-лимфоциты и плазмоциты, CD45LCA(+) лейкоциты, в том числе макрофаги, в строме ворсин не обнаруживаются. Апоптоз клеток стромы не увеличен, количество капилляров различается с группой 1 умеренно (Таблица 4.2.).

Рис.4.6. Пути острой бактериальной инфекции в беременной матке



1 - миометрий, 2 - децидуальная часть, 3 – ворсины хориона, 4 – амнион, 5 – амниональные воды, 6 – хорион, 7 – лакуны с кровью беременной, 8 – пуповина, 9 – желточный мешок, 10 – гематогенное распространение инфекции (группа 3В): эндометрит – децидуит – в кровь лакун – ворсины – пуповина – кровь эмбриона, 11 – другой путь инфекции (группа 3А): эндометрит – децидуит – хориоамнионит – амниональные воды – заглатывание инфицированных вод. Желтым цветом выделены зоны воспаления, красным – два пути инфекции.

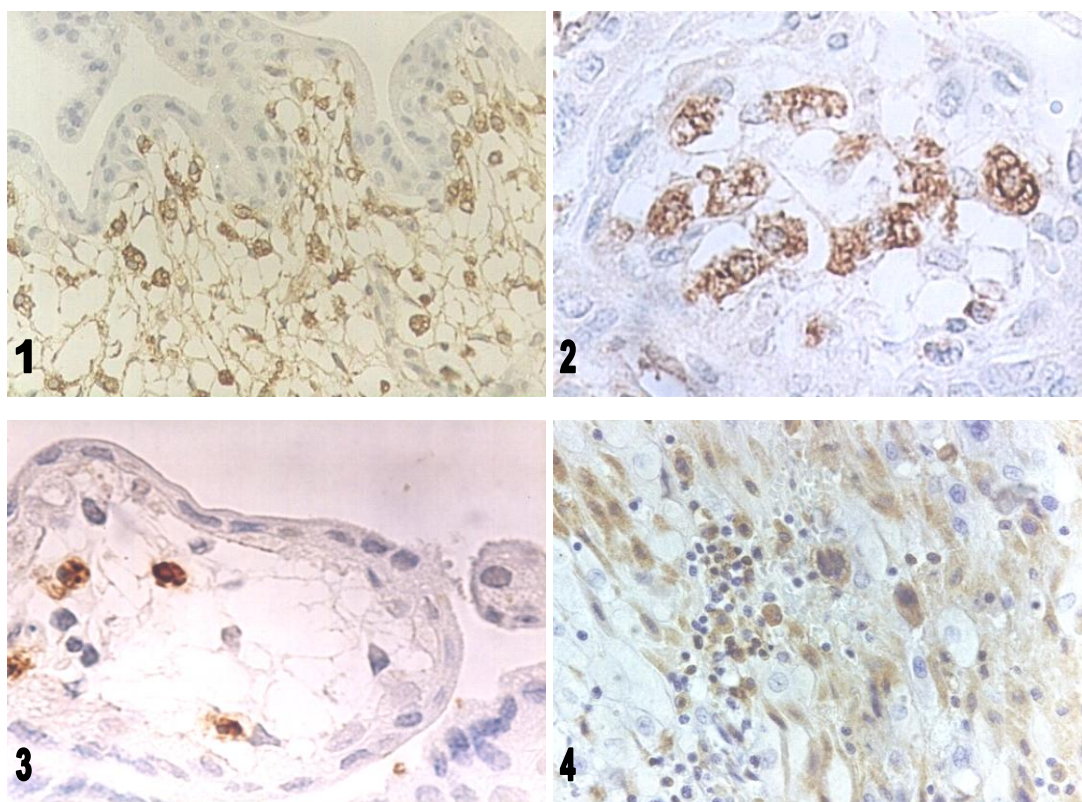


Рис.4.7. 1, 2 - в ворсинах группы 3А на 13 – 20 неделях количество фагоцитов и их фагоцитарная активность значительно возрастают (сравнить с Рис.4.1., Табл. 4.9.). 3 – в ворсинах появляются CD3(+) Т-пролимфоциты. 4 – усиливается перемещение групп пролиферативного трофобласта в децидуальную ткань и в результате в ней возрастает количество инвазивного трофобласта, в котором содержится много IgM. Имеются IgM(+) В-лимфоциты. Увеличение 1, 4 x400, 2, 3 x1000.

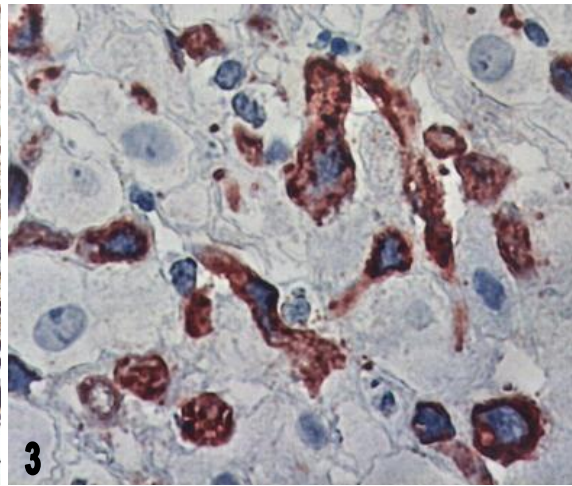
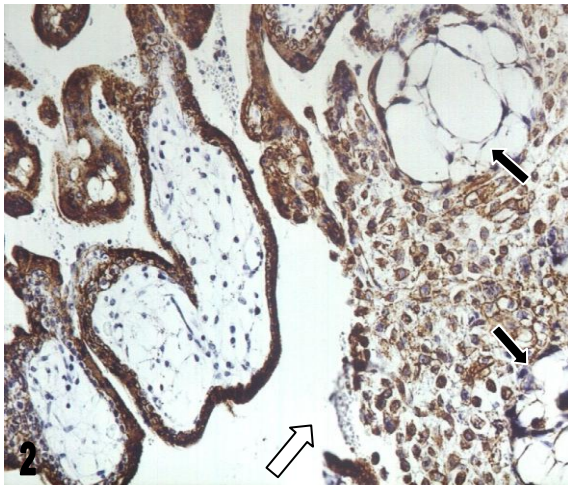
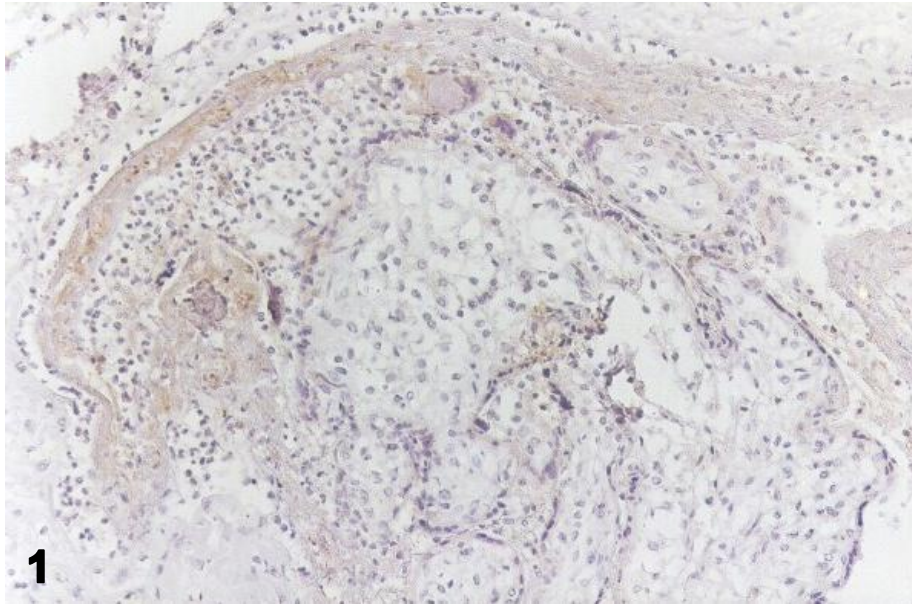


Рис.4.8. Группа 3А, 17 – 20 недель развития. **1** – ворсины: синцитиотрофобласт и местами цитотрофобласт разрушены. Некоторые сосуды тромбированы, другие свободны и без эритроцитов. Много фагоцитов. На поверхности ворсин большое количество лейкоцитов и фибрина. В окружающей оболочке лейкоциты, $\times 200$. **2** – в ворсинах большое количество пролиферирующего трофобласта, имеются участки в контакте с децидуальной тканью. Трофобласт лакун местами разрушен (светлая стрелка). В децидуальной ткани участки колликативных некрозов (темные стрелки). Все виды трофобласта, в том числе на лакунах и в инвазивном, SC(+). Инвазивный трофобласт множественный, в нем немного фагоцитированных частиц, $\times 200$. **3** – среди децидуальных клеток в крупном SC(+) инвазивном трофобласте немного фаголизосом. $\times 1000$.

Таблица 4.9. Среднее количество фаголизосом, содержащихся в мононуклеарных фагоцитах ворсин, инвазивного трофобласта и в макрофагах децидуальной ткани

Количество фаголизосом в срезе клетки		Группа 1	Группа 2	Группа 3А	Группа 3В	Группа 4
Моно-нуклеарные фагоциты	IgG	10.2 ± 0.67	8.75 ± 0.88	9.47 ± 0.37	14.05 ± 1.69 b c	47.58±2.66 a,b,c,d
	IgA	8.84 ± 0.72	6.07 ± 0.57 a	8.95 ± 0.23 b	13.26 ± 0.81 a b c	34.21 ± 2.71 a,b,c,d
	IgM	0.96 ± 0.25	3.1 ± 0.25 a	4.54 ± 1.14 a	7.41 ± 1.13 a b	15.37 ± 1.34 a,b,c,d
Инвазивный трофобласт	IgG	12.69±0.69	12.22±0.84	8.58 ± 0.47 a b	13.31 ± 1.52 c	51.73 ± 2.98 a,b,c,d
	IgA	12.76±1.15	12.02±1.13	7.59 ± 1.17 a b	12.53 ± 0.79 c	47.11 ± 3.38 a,b,c,d
	IgM	10.14±0.99	9.67±0.88	9.33 ± 0.59	10.48 ± 1.27	42.45 ± 3.16 a,b,c,d
Макрофаги децидуальной ткани	IgG	5.73±0.41	4.84±0.33	12.7±1.44 a b	14.0±1.97 a b	18.09±2.03 a b
	IgA	4.35 ± 1.12	3.11 ± 0.72	10.15 ± 1.32 a b	13.19 ± 1.21 a b	18.59 ± 2.95 a,b,c,
	IgM	3.67 ± 1.04	2.23 ± 0.46	5.41 ± 0.83 b	11.04 ± 1.42 a,b,c,	17.39 ± 2.28 a,b,c,d

a,b,c,d - достоверные отличия ($p < 0.05-0.001$) последующих групп к группам 1, 2, 3А и 3В.

Таблица 4.9 иллюстрируется диаграммой 4.2. Иммуноглобулины в группах 1, 2, 3А и 3В мононуклеарных фагоцитов в ворсинах, в инвазивном трофобласте и в макрофагах, в децидуальной ткани показывает небольшое количество аллогенных антител. В группе 4 фагоцитоз резко возрастает (для всех иммуноглобулинов $p < 0.001$), что означает наличие большого количества аллогенных иммуноглобулинов. Меньшие показатели фагоцитоза фагоцитами ворсин в сравнении с инвазивным трофобластом связаны не с меньшей активностью фагоцитов. Они фагоцитируют то и столько, что проходит через плацентарный барьер. Например, IgM, который в группе 1 лишь изредка и немного пропускается через барьер, близок к нулю. А инвазивный трофобласт находится в децидуальной ткани беременной, где имеется много иммуноглобулинов от большого количества В-лимфоцитов, содержащихся здесь. Большое количество IgM, фагоцитированных в группе 4 инвазивным трофобластом в децидуальной ткани, не отличается достоверно ($p > 0.05$) от количества фагоцитированных IgG и IgA. Это показывает, что в группе 4 фагоцитируются новые, только недавно синтезированные антитела. Количество фаголизосом в макрофагах децидуальной ткани в эмбриональном периоде в 1-ой и 2-ой группах, где воспалительные процессы не происходят, невелико. В группах 3А, 3В и 4 проходят воспалительные и иммунные процессы, и количество фаголизосом в них значительно больше, чем в группах 1 и 2 ($p < 0.02-0.001$).

4.5.2. Плацента беременной

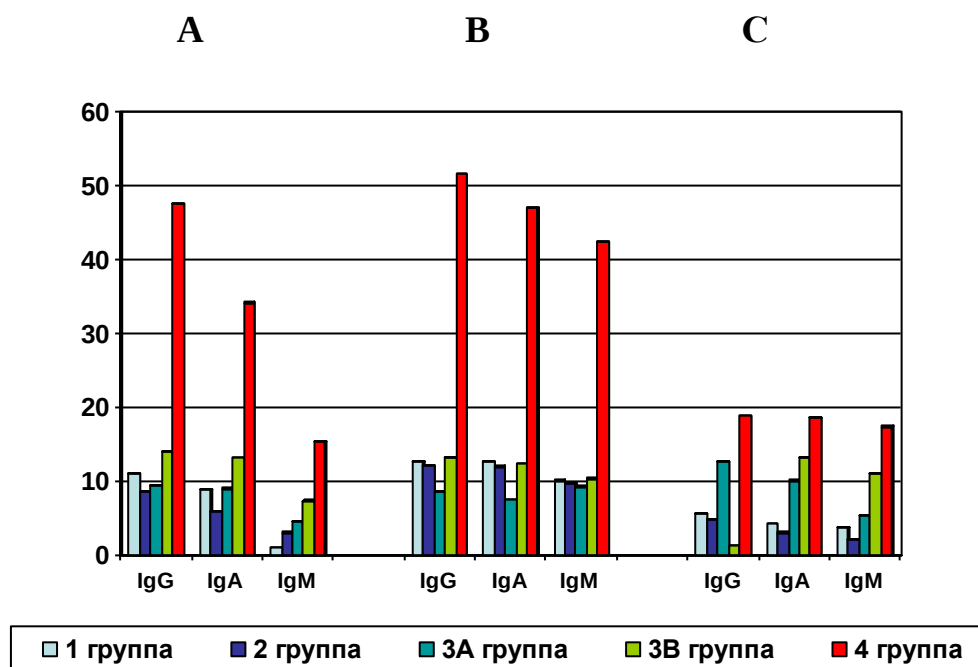
Плацента в случаях группы 3А претерпевает значительные изменения в связи с острым бактериальным воздействием.

В децидуальной ткани имеются значительные участки некроза с обильной инфильтрацией лейкоцитами, главным образом нейтрофилами, а также небольшим количеством CD68(+), CD16(+) и CD32 макрофагов. Иногда видно распространение некроза на хорион и амнион, по краю некроза со стороны децидуальной ткани имеется немного нейтрофилов. В некротизированной ткани -

микрофлора, чаще – кокки, иногда палочки. В некоторых случаях в зонах воспаления отмечен тромбоз спиральных сосудов, облитерация единичных спиральных артерий - в одном случае. Количество лейкоцитов вне участков некроза в децидуальной ткани изменено по-разному. Количество всех Т-лимфоцитов (CD3, CD4, CD8, а также CD56 NK) не изменилось по сравнению с группой 1 (Табл.4.6.). Уменьшилось количество CD20(+) В-лимфоцитов, но возросло число плазмочитов CD79A(+), в которые превратились В-лимфоциты. Значительно возрастает число CD68(+) макрофагов и количество в них фаголизосом (не содержащих иммуноглобулины, см. Табл.4.9.). Увеличилось также количество CD45LCA(+) лейкоцитов (Таблица 4.7.).

Инвазивный трофобласт, наряду с резким снижением пролиферативной активности (Табл.4.4.), несколько снижает также фагоцитоз иммуноглобулинов (Табл.4.9., Диаграмма 4.2.). Но, по-видимому, это не признак снижения их фагоцитарной функции; более вероятно это следствие увеличения образования антимикробных антител, которые не являются вредоносными для эмбриона и не подлежат уничтожению. Апоптоз инвазивного трофобласта и фагоцитоз его незначительны.

Диаграмма 4.2. Среднее количество фаголизосом с иммуноглобулинами в мононуклеарных фагоцитах ворсин (А), инвазивного трофобласта в децидуальной ткани (В) и макрофагах беременной (С) (см.Табл.4.9)



Межворсинчатые пространства не претерпевают существенных изменений. Они содержат кровь и немного фибрина на ворсинах (Табл.4.8.). Мелкие фибриновые сгустки имелись в шести случаях. Бактериальная флора отсутствует. Количество нейтрофилов в крови в 75.5% случаев составляет 10-20 клеток на 50000 μm^2 площади среза и в 24.5% случаев количество повышается до 30-60 на 50000 μm^2 . Состав Т-лимфоцитов существенно не изменяется (Табл.4.7), несколько повышается количество NK ($p < 0.05$), макрофагов и CD45LCA (в обоих случаях $p < 0.01$).

4.5.3. Заключение по группе 3А

Отмеченные изменения в части плацентарного барьера беременной и, в частности, состояние иммунокомпетентных клеток свидетельствуют об остром, недавно начавшемся воспалительном процессе, имеющем компенсаторный характер. В эмбриональной части плацентарного барьера этот вариант бактериальной инфекции тоже протекает с компенсаторными реакциями. Это связано с тем, что в группе 3А острая бактериальная инфекция родовых путей обходит плацентарный барьер и распространяется на эмбрион через хорион и амнион (рис.4.6). Через эти оболочки в околоплодные воды проходят иммуноглобулины беременной, они заглатываются эмбрионом вместе с бактериями в желудок и в кишечник. А в их эпителии и в прилежащих поджелудочной железе и печени уже к началу эмбрионального периода содержатся и функционируют элементы СИС: SC, J-цепь и иммуноглобулины (Israel E.I., et al.,1993; Gurevich P., et al., 2003A; Ben-Hur H., et al., 2004). Поэтому течение этого варианта бактериальной инфекции родовых путей протекает легче, чем другого варианта того же заболевания, но распространяющегося через плацентарный барьер и далее – гематогенными путями (группа 3В). И все же легким этот процесс назвать трудно: уменьшается размножение клеток цитотрофобласта, количество Ki67+ клеток в группах пролиферирующего трофобласта, в инвазивном трофобласте и в эндотелии капилляров ворсин (Таблица 4.4.), IL2R α , рецепторы трофобластов и моноцитов Fc gamma RII и RIII (Таблица 4.5.) и другие. В то же время имеются процессы положительного характера: в пролиферирующем трофобласте количество Ki67+ не уменьшается, в желточном мешке, отделенном от плацентарного барьера, увеличивается размножение моноцитов и промоноцитов, так что их общее количество возрастает вдвое, а промоноцитов даже в 13 раз (Таблица 4.5, $p < 0.001$). Значительные изменения происходят в самих эмбрионах или плодах (см.5.6.1.). Причина их гибели - тяжелые патогенные воздействия в результате бактериальной инфекции и нарушения обмена из-за воспаления плаценты беременной.

4.6. Группа 3В. Восходящая инфекция родовых путей с гематогенным распространением

Следует сразу отметить, что в группе 3В речь идет не о гематогенной инфекции беременной – это гематогенное распространение в эмбрионе или плоде. На начальных этапах в случаях группы 3В острая восходящая бактериальная инфекция полового тракта беременной следует тем же путем, что и в группе 3А: возникает воспаление децидуальной ткани (децидуит). Но распространение воспаления может измениться – перейти не на трофобласт и амнион, а на стенки лакун и далее на ворсины – обычные или якорные, контактирующие с децидуальной тканью (Рис.4.6). Так поражается плацентарный барьер, и бактериальная инфекция гематогенным путем распространяется на эмбрион или плод. Исследованы 9 случаев эмбрионального периода и 4 – фетального (Табл.4.1).

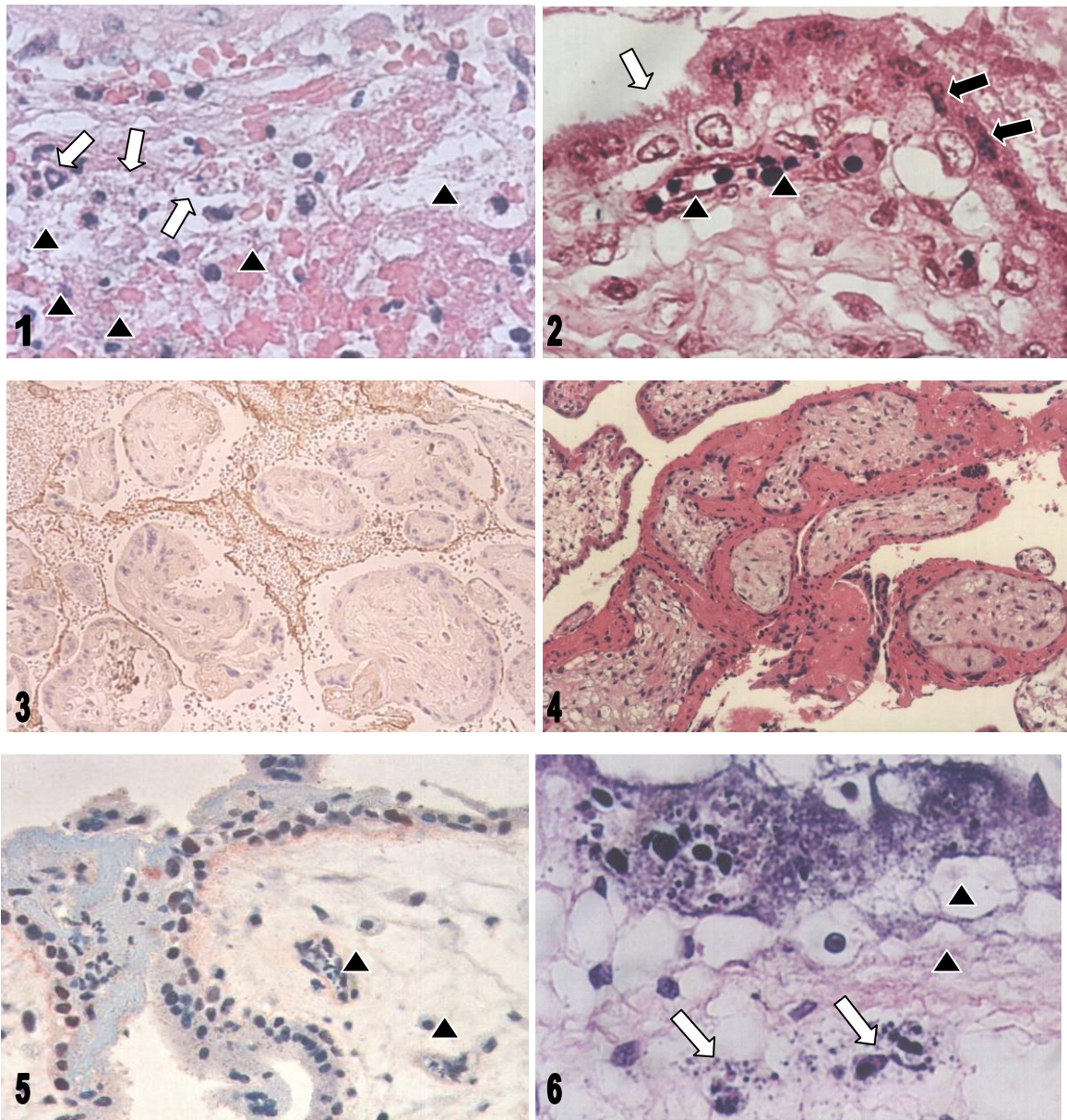


Рис.4.9. Группа 3В. Случаи 6 – 10 недель. 1 – кровоизлияние и некроз в строме ворсины. Большинство ядер в пикнозе, некоторые в апоптозе (светлые стрелки). Везде микрококки (▲). 2 – ворсина. Разрушена часть синцитиотрофобласта (светлая стрелка), в другой части – апоптоз (темные стрелки). В цитотрофобласте часть клеток разрушена. Есть кокки. В капилляре апоптоз эритроцитов (▲). 3 – между ворсин свертываются нити фибрина с кровью. Трофобласт значительно разрушен. 4 – группа ворсин с разрушенным трофобластом окружена фибрином с лейкоцитами. Капилляры единичны. 5 – разрушение синцитиотрофобласта, образование фибрина с нейтрофилами. Повреждение двух капилляров (▲). 6 – развитие 16 недель. Ворсина: крупные колонии кокков (Gram+) на колликативных некрозах стромы (▲). Вне некроза – сосуды в состоянии полного апоптоза (светлые стрелки). Увеличение 1, 2 x1000, 3, 4 x200, 5 x400, 6 x1200.

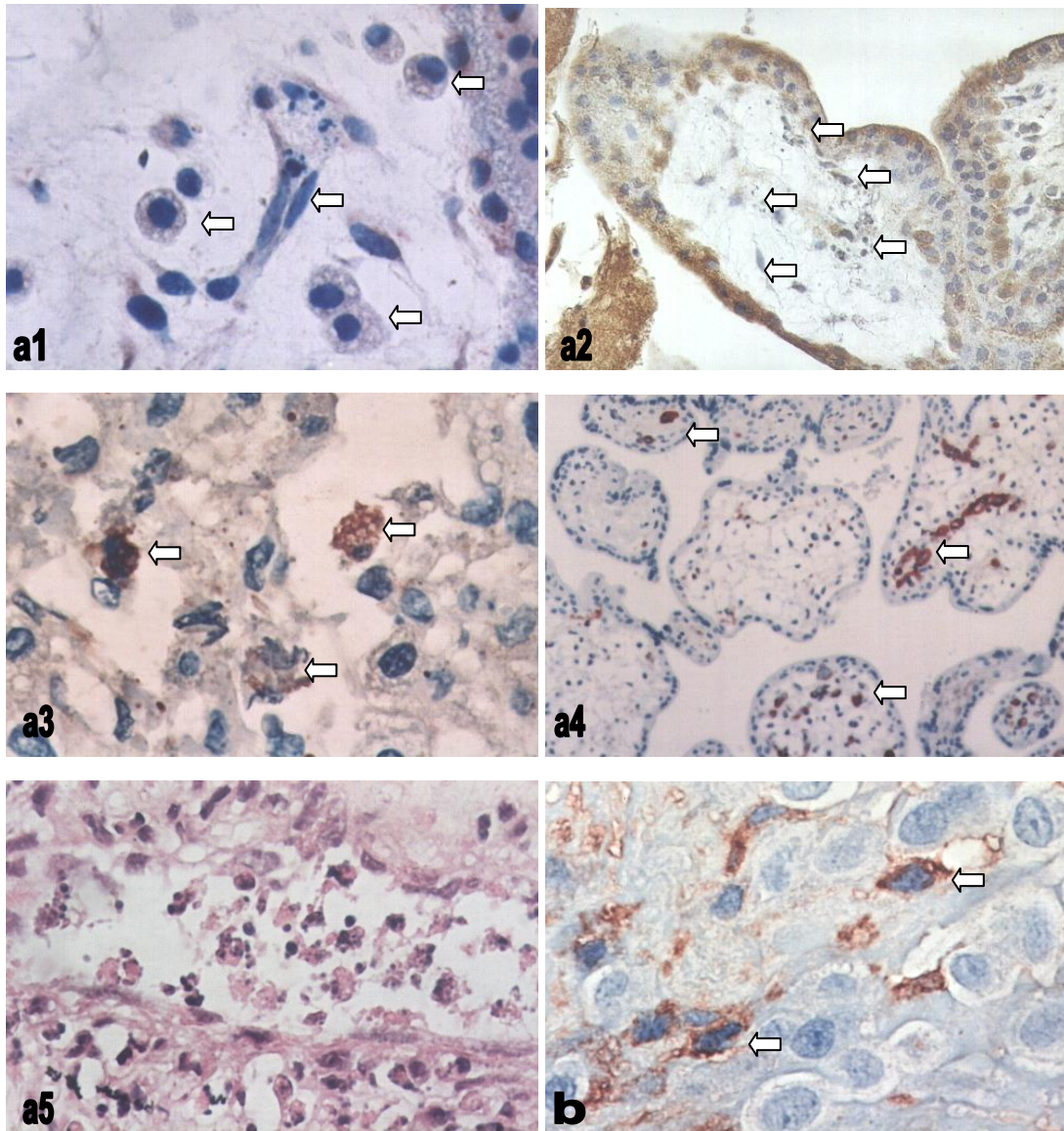


Рис.4.10. Группа 3В. В сосудах ворсин довольно часто встречается апоптоз капилляров, иногда моноцитов в строме. **a1** – апоптоз недавно развившийся: разрушены эритробласты, сгустки фибрина в просвете капилляра, а эндотелий капилляра и моноциты в строме ворсины еще целы (светлые стрелки); **a2** – апоптоз охватил все капилляры ворсины целиком, остались лишь мелкие комочки (светлые стрелки) в трофобласте J-цепь (+); **a3** – апоптоз моноцитов происходит с участием FasLigand(+) (светлые стрелки), при распаде клеток он разрушается; **a4** – во многих ворсинах капилляры разрушены апоптозом полностью, CD34(+) выявляет часть сохранных (лишь в трех ворсинах – светлые стрелки), а остальные без капилляров; **a5** – в сборном сосуде, по которому оттекает кровь от нескольких ворсин, иногда можно видеть множественный апоптоз эритробластов и моноцитов; **b** – инвазивный трофобласт в децидуальной ткани беременной содержит IgG(+) и небольшое количество фагоэндосом (светлые стрелки). a1, a3, a5 и b x1000, a2 x400, a4 x200.

4.6.1. Ворсины хориона

Небольшие группы ворсин или участки некоторых ворсин покрыты фибрином в местах разрушения синцитио- и меньше цитотрофобласта. Иногда некроз распространяется на строуму ворсин (рис.4.9). В фибрине на поверхности и в участках некроза строма имеют колонии кокков, редко – палочек, а в отдельных случаях – тех и других. Разрушения ворсин группы 3В вызывают изменения гораздо более значительные, чем не только в контрольной группе 1, но и в группе 3А (см. Табл. 4.2 и Рис.4.7). Функционируют менее 20% ворсин, в остальных – капилляры находятся в состоянии спазма, облитерации или тромбоза. Среднее количество капилляров в среде ворсины группы 3В меньше, чем в группах 1 и 3А ($p < 0.001$). В 33% случаев отмечен некроз строма, местами он преобразуется в фиброз, обызвествление ворсин, или гемосидероз на местах бывших кровоизлияний.

Трофобласт. В синцитиотрофобласте и в цитотрофобласте вне зоны разрушения содержатся SC, J-цепь, IgG, IgA, слабая окраска IgM. TUNEL, Fas, FasLigand и p53 положительны в участках разрушения трофобласта; bcl2 слабо окрашивает апикальные ворсинки синцитиотрофобласта в сохранных участках. Резко, в 4 – 10 раз, снижается пролиферация (показатель Ki67+) во всех видах трофобласта (синцитиотрофобласт, как всегда, Ki67 отрицателен)) (см.Табл. 4.4).

Клетки и строма ворсин хориона. Некроз участков строма ворсин и его следствия – фиброз, обызвествление или отложения гемосидерина отмечены в 55.5% случаев. У плодов II триместра этой группы некрозы ворсин и их следствия не обнаружены. Колонии бактерий выявлены в 84.6% случаев. Наряду с некрозом строма, многочисленных фибробластов и гладкомышечных клеток имеется апоптоз мононуклеарных фагоцитов p53 положительных ($9.26 \pm 2.36\%$ из общего числа) и эндотелия капилляров ворсин, а иногда также вен стволых ворсин (Рис.4.9, 4.10). Количество мононуклеарных фагоцитов по сравнению с контрольной группой 1 не изменено, но резко увеличено число промоноцитов (до 25.6%), уменьшено количество пролиферирующих Ki67(+) фагоцитов, а также фагоцитов, содержащих различные рецепторы (Таблица 4.5). В крови появляются одиночные миеломоноцитарные стволовые клетки. Комплекс этих изменений является признаком недостаточности мононуклеарных фагоцитов. Содержание в фаголизосомах IgG и IgA не велико и существенно не отличается от групп 1, 2 и 3А, только IgM несколько увеличен (Диаграмма 4.2, Табл.4.9, Рис.4.10), транспортировка которого через плацентарный барьер усиливается.

4.6.2. Плацента беременной

Состояние части плаценты беременной в основном сходно с наблюдающимся в группе 3А, так как в обеих группах действуют аналогичные патогены – бактерии. Однако есть некоторые отличия.

Децидуальная ткань. Острый децидуит представлен крупными участками некроза, окруженными умеренной инфильтрацией лейкоцитов (Рис.4.9), в основном нейтрофилами, имеются также инвазивные трофобласты, немного натуральных киллеров и макрофагов, образующих значительные скопления. Имеется микрофлора, в основном кокки. Иногда некроз достигает поверхности кровяных лакун, покрывающий лакуны трофобласт в этих участках разрушается. Иногда виден контакт зоны некроза с якорными ворсинами, при этом отсутствует переход

лейкоцитов матери с некроза децидуальной ткани на ворсину, но инвазивный трофобласт активно проникает не только в децидуальную ткань, но и в лейкоцитарный вал и в некроз, куда лейкоциты не проникают (рис.6.2). В 7.7% отмечена пролиферация эндотелия в некоторых спиральных артериях. Децидуальные клетки не содержат SC, J-цепь и иммуноглобулины, это четко отличает их от инвазивного трофобласта. В инвазивном трофобласте значительно уменьшено количество пролиферативных Ki67(+) клеток (Табл.4.4). Апоптоз инвазивного трофобласта 1.12 ± 0.08 на $50000 \mu\text{m}^2$. Количество фаголизосом с иммуноглобулинами не отличается от группы 1 (Табл.4.9; Диаграмма 4.2). Количество Т-лимфоцитов (CD3, CD4, CD8, NK-CD56) в группе 3В незначительно отличается от показателей остальных исследуемых групп (Табл.4.6). Резкое снижение количества В-лимфоцитов и увеличение плазмоцитов отражает превращение первых в плазмциты, что является проявлением гуморальной иммунной реакции. Значительно возрастает по сравнению со всеми группами количество CD68 макрофагов, что свидетельствует о сильном патогенном воздействии (Табл.4.6).

Межворсинчатые пространства. Тромбы вокруг небольших групп ворсин эмбрионов и плодов отмечены в 33.06% случаев, кроме того, в 15.4% случаев имели мелкие сгустки фибрина. В эмбрионах частота тромбообразования отмечена в 55.55% случаев (Табл.4.8). В крови и фибрине во всех случаях имеется микрофлора – кокки, в одном случае – кокки и палочки, колонии микрофлоры выявляются в крови лакун. Количество нейтрофилов в крови повышено: от 30 до 50 клеток на $50000 \mu\text{m}^2$ площади среза в половине случаев, во второй половине от 50 до 100 и даже 300 клеток, в среднем 78.9 ± 12.3 на $50000 \mu\text{m}^2$ площади среза. В крови межворсинчатых пространств и в фибрине имеются все виды иммунокомпетентных клеток (Табл.4.7) При этом Т-лимфоциты (CD3, CD4, CD8), В-лимфоциты и плазмциты не отклоняются существенно от количества этих клеток во всех исследованных группах. Содержание NK (CD56) повышено в сравнении с группой 1 ($p < 0.001$). Число макрофагов (CD68) увеличено.

4.6.3. Заключение по группе 3В

Разделение острого инфекционного бактериального процесса в половых путях во время ранней беременности на два варианта основывается на их различном распространении, осложнениях и тяжести течения. Это обусловлено тем, что в группе 3В на гематогенном пути в эмбрионах нет иммуноглобулинов беременной, которые есть на пути распространения такой же инфекции в группе 3А в околоплодных водах и в кишечной трубке. Более того, гематогенное распространение инфекции в группе 3В проходит через плацентарный барьер, где тяжело повреждаются капилляры ворсин и сами ворсины. Разрушение мононуклеарных фагоцитов ворсин носит отчетливый характер апоптоза, имеется p53. В участках разрушения синцитиотрофобласта и, отчасти, цитотрофобласта имеются положительные реакции TUNEL, Fas и FasLigand, что свидетельствует об апоптозе. Но частично измененные участки трофобласта и участки стромы ворсин следует отнести к некрозу, так как в них упомянутые TUNEL, Fas, FasLigand и p53 отрицательны. Кроме того, в некрозах стромы и вообще в строме, кроме мононуклеарных фагоцитов, клетки (фибробласты и миоциты) единичны. Остаются функционирующими менее пятой части капилляров, разрушается (апоптоз, некроз, фиброз, петрификация) более половины ворсин. Далее, распространение инфекционных патогенов (сами микроорганизмы, их токсины) с кровью дает им

путь в жизненно важные органы эмбрионов – мозг, эндокринные органы, сердце и другие. Тяжелое повреждение тканей и органов проявляется в резком снижении их пролиферативных (регенеративных) возможностей (трофобласт, мононуклеарные фагоциты). Снижены биологически активные вещества (интерлейкин IL2R α , Fc gamma RIII и RII) в фагоцитах (Таблица 4.5.). Все это обуславливает гибель и разрушение зародыша: если в группе 3А ткани эмбрионов сохранились до аборта в 61.54%, а плодов – в 90.91% случаев (в сумме 80.0%), то в группе 3В эмбрионов сохранилось 44.44%, плодов – 25%, и в сумме их было 38.46% (Таблица 5.1).

Состояние материнской части плаценты в группах 3А и 3В по большинству иммунокомпетентных клеток сходны. Но в группе 3В происходит значительное увеличение количества плазмочитов по сравнению с группой 3А в децидуальной ткани (Табл.4.6) и в крови лакун (Табл.4.7) ($p < 0.01 - 0.001$). Это свидетельствует о более интенсивном влиянии патогенов на организм беременных в группе 3В: проход крови лакун, содержащей микрофлору, в общий кровоток беременной может вызвать у нее патологические процессы в первые 4 месяца беременности.

Значительно развился апоптоз, поразивший ткани $9.26 \pm 2.36\%$ ворсин, главным образом, мононуклеарные фагоциты, капилляры и, менее, синцитиотрофобласт. Это вызвало значительное увеличение числа аваскулярных ворсин и уменьшение среднего количества капилляров в них, хотя существенного возрастания отека ворсин не отмечается. Резко снизилось количество функционирующих капилляров (Табл.4.2).

4.7. Группа 4. Ранний аллогенный конфликт беременной и эмбриона

В группу входят 43 случая (52.4%) эмбрионов 3.5-8 недель, более длительных не отмечено. Ткани эмбрионов выявлены в 15 случаях (Таблица 4.10).

В зоне плацентарного барьера в случаях группы 4 имеются характерные изменения, во многом отличающиеся от нормального состояния (группа 1), от других патологических, в том числе воспалительных, процессов (группы 2, 3А и 3В), хотя имеются некоторые сходные изменения. В главе 4 будут рассмотрены изменения в области плацентарного барьера.

4.7.1. Ворсины хориона

Основной процесс, вызывающий в группе 4 тяжелые повреждения – это множественный апоптоз всех видов трофобласта, мононуклеарных фагоцитов, капилляров ворсин и эритробластов. В результате апоптоза капилляров в группе 4 количество ворсин с функционирующими капиллярами уменьшилась в 2.5 раза, количество аваскулярных ворсин возросло в 3 раза, среднее количество капилляров на одну ворсину уменьшилось в 2.5 раза (все $p < 0.001$). Имелись также спазм, облитерация, тромбоз и полное разрушение капилляров (Табл.4.2). Резко увеличено количество отежных ворсин. Некроз, фиброз и петрификация ворсин отсутствуют.

Апоптоз одновременно поражает небольшое количество ворсин: в 83.7% случаев повреждается 3-18% ворсин, более значительное количество – 20-33% отмечается лишь в 16.3% случаев. В среднем количество ворсин, в которых имеются TUNEL-положительные синцитиотрофобласты (всей ворсины или только ее части), а также в капиллярах и моноцитах этих и других ворсин составляет 26.39 ± 4.75 . Постепенно охватываются следующие ворсины. За каждую из недель 3.5-4, 5, 6 количество ворсин с апоптозом одинаковое (Табл.4.10), число ворсин с

нормальными капиллярами и аваскулярных ворсин также одинаково на упомянутых неделях. А затем на 7 и 8 заключительных неделях уменьшается количество ворсин с нормальными капиллярами и увеличивается число аваскулярных ворсин. И только число ворсин с апоптозом сосудов и отечных остается прежним. Такое распределение апоптоза и его последствий свидетельствует о действии патогена постепенно и небольшими дозами. В последние две недели происходит завершение минимально возможного количества еще функционирующих ворсин.

Представляют интерес сгустки фибрина на ворсинах. На 3.5-4 неделе их образуется мало, но на каждой 5-8 неделях их количество возрастает в 3.3 – 4.1 раз (Рис.4.10, Таблица 4.10). Это показывает, что началом патологического процесса в этих случаях является не свертывание белков крови, а разрушение трофобласта ворсин аллогенными антителами. Это и создает условия для последующего свертывания крови: свертывание белков – это осложнение того процесса, который вызывает повреждение трофобласта.

Таблица 4.10. Сроки аборта и изменения ворсин хориона при аллогенном конфликте (Группа 4)

	Нед е л и				
	3.5-4	5	6	7	8
Количество аборт ов (всего 43)	11	11	10	8	3
Из них - тканей эмбрионов (всего 15)	8	2	2	2	1
Остаются на следующую неделю	32	21	11	3	0
Ворсины с нормальными капиллярами (%)	38.45±3.29	36.07±3.52	32.0±3.76	16.44±4.57	19.68±5.63
Ворсины с апоптозом (%)	11.04±2.78	10.36±2.1	13.63±2.67	13.85±2.12	12.82±3.07
Аваскулярные ворсины (%)	13.64±1.36	13.99±1.78	13.85±2.01	22.94±3.33	7.27± 0.99
Количество случаев со сгустками фибрина (%)	9.1	36.4	30.0	37.5	33.0
Отечные ворсины (%)	45.58±5.87	57.64±4.38	41.35±5.76	48.88±5.85	38.81±2.86

Трофобласт. В синцитиотрофобласте и, меньше, в цитотрофобласте некоторых ворсин происходит разрушение на мелкие частицы в небольших или более значительных участках. Положительная реакция TUNEL, наличие FasLigand и p53 свидетельствуют о происходящем апоптозе, хотя распад групп клеток при патологическом апоптозе быстро завершается некрозом (см. главу 5.2). В синцитиотрофобласте вне участков апоптоза выявляются белки, участвующие в апоптозе в качестве рецептора – Fas, и антагониста - bcl2. Резко снижается интенсивность пролиферации цитотрофобласта, пролиферирующего трофобласта и количество его групп (Табл.4.4)

Рецептор иммуноглобулинов – SC в различных ворсинах меняет свое расположение в соответствии с этапом транспорта иммуноглобулинов. J-цепь, IgG и IgA выявляются в синцитио- и цитотрофобласте, IgM окрашиваются слабо. Некоторые группы клеток пролиферирующего трофобласта не содержат J-цепь и иммуноглобулины. Рецепторы Fc gamma RIIIa (CD16) и Fc gamma RII (CD32) местами слабо положительны в микроворсинках синцитиотрофобласта.

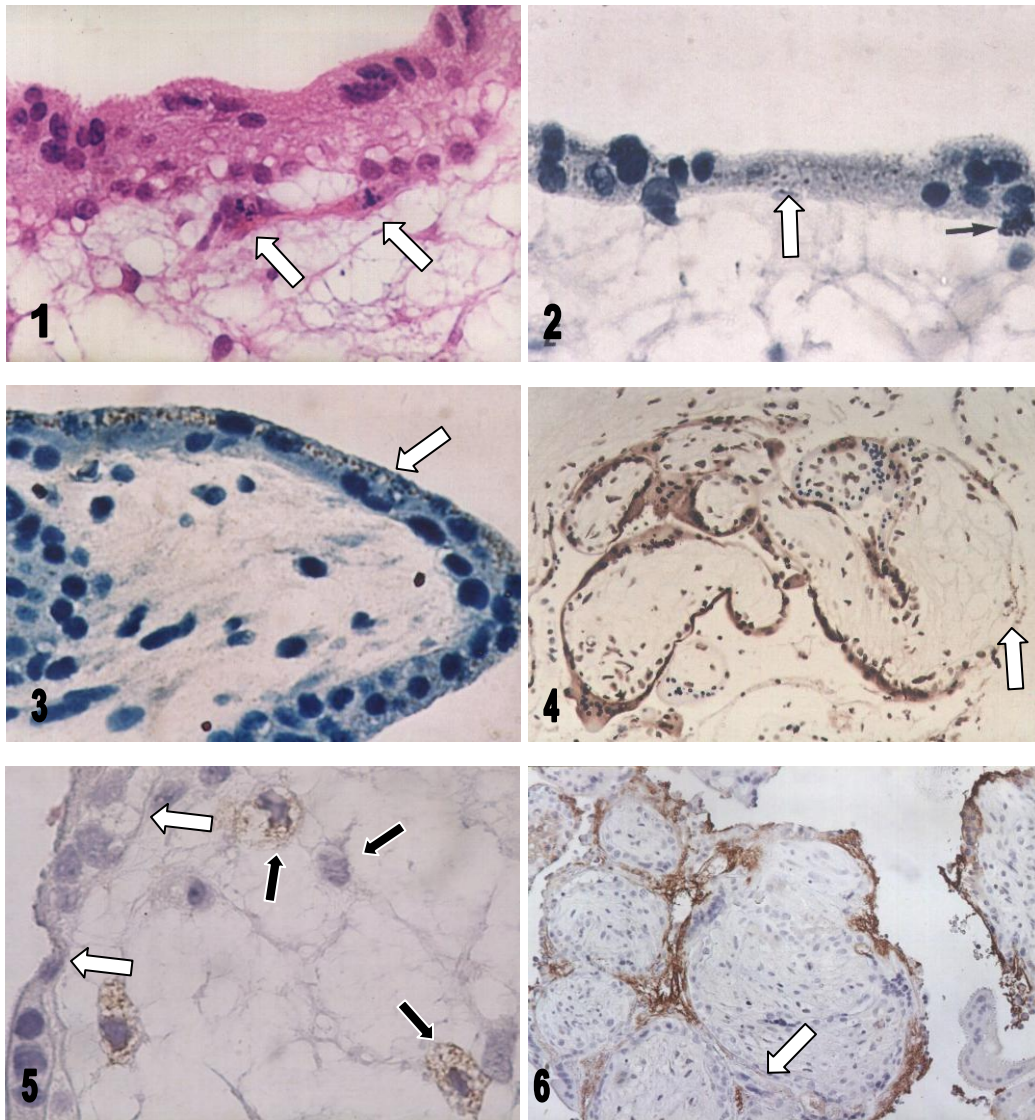


Рис.4.11. Группа 4. 1 - синцитиотрофобласт значительно повреждается одним из первых. Разрушение происходит путем апоптоза: ядра сначала становятся гомогенными, а потом распадаются на мелкие зерна. Цитотрофобласт под ним еще не изменен, но капилляр под цитотрофобластом тоже разрушается (светлые стрелки). Строма отекает. 2 - синцитиотрофобласт уже разрушен и распался, распадается цитотрофобласт (светлая стрелка). Многие ядра его становятся гомогенными, плотными, а затем распадаются на мелкие зерна (темная стрелка). 3 - синцитио- и цитотрофобласт распадаются, темные коричневые гранулы в них - FasLigand(+), реакция, вызывающая апоптоз (светлая стрелка). 4 - реакция TUNEL показывает начинающийся и происходящий апоптоз в трофобласте, моноцитах и капиллярах ворсин (коричневый цвет). Разрушенный трофобласт теряет коричневую окраску (светлая стрелка). 5 - синцитиотрофобласт полностью разрушен, цитотрофобласт - местами (светлые стрелки) и некоторые промоноциты (CD68±) (темные стрелки) разрушаются. 6 - остатки группы ворсин, соединенных фибрином, трофобласты, фагоциты отсутствуют, единичные следы капилляров только в одной ворсине (светлая стрелка). В строме ворсин сохранены фибробласты и редкие миоциты. Случаи 1 - 5 - разрушение на 3.5 - 4 недели, случай 6 - 5-6 неделя. 1, 2, 3, 5 - $\times 1000$, 4 - $\times 100$, 6 - $\times 200$.

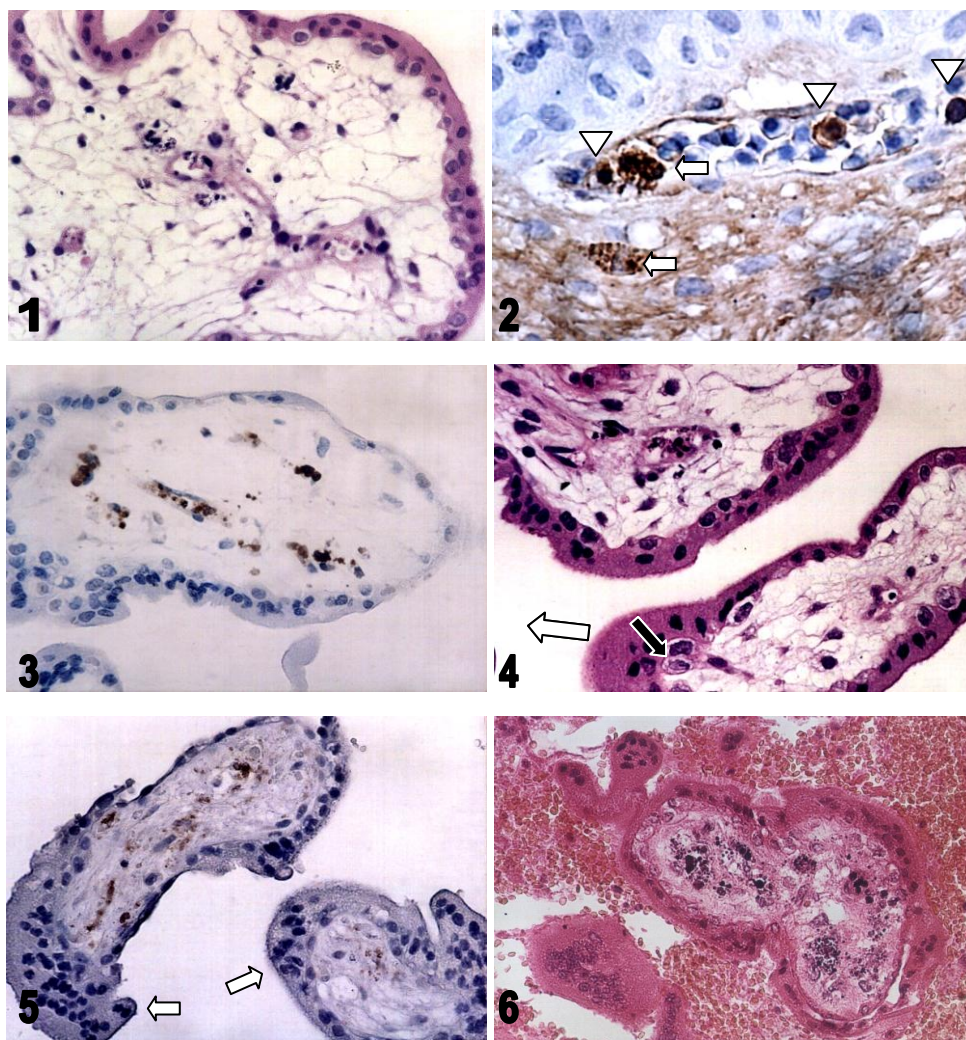


Рис.4.12. Группа 4. Случаи 1-4 - 3.5 недели развития. **1** – почти полностью разрушены синцитиотрофобласт, эндотелий капилляров, апоптоз эритробластов, моноцитов в капиллярах и в строме. Небольшой отек. **2** - IgA содержится в эндотелии капилляров – немного, только в трех эритроблестах (Δ) и двух моноцитах (светлые стрелки), находящихся в капилляре и строме ворсины в апоптозе. **3** – разрушение синцитиотрофобласта и части цитотрофобласта. Эритробласты и моноциты в апоптозе, TUNEL(+). **4** – та же картина: разрушение синцитиотрофобласта, пикноз части ядер цитотрофобласта, распад эндотелия капилляров, апоптоз эритробластов. **5** – 5 неделя развития: распавшийся синцитио– и часть цитотрофобласта. Имеются участки пролиферации (светлые стрелки). Апоптоз капилляров и их клеток. **6** – седьмая неделя. Развиваются осложнения: сгущение и свертывание крови вокруг ворсин, интенсивный апоптоз почти всех тканей. 1, 3, 4, 5 и 6 x400, 2 x1000.

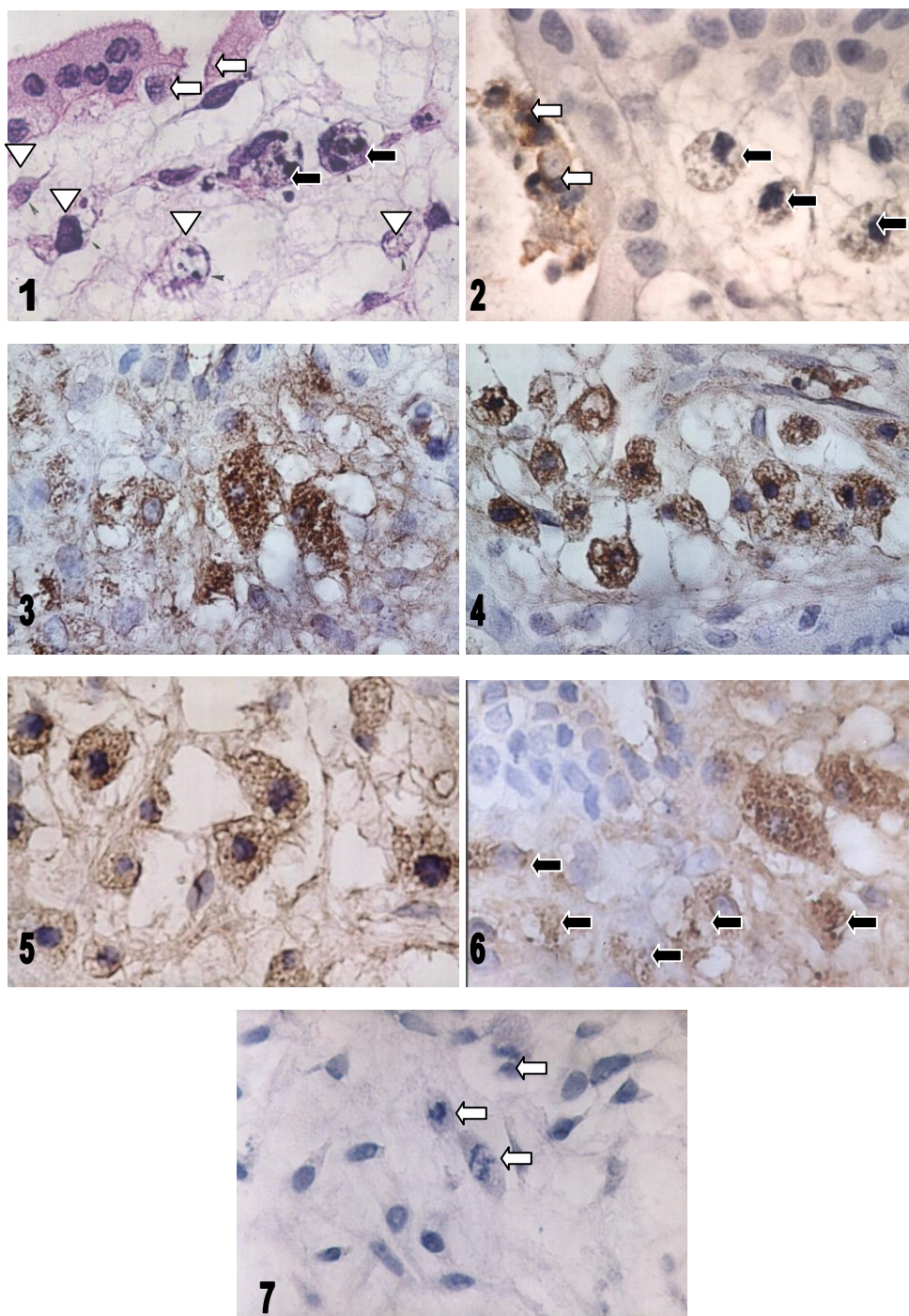


Рис. 4.13. Группа 4. Все случаи 3.5 – 5 недель. **1** – синцитиотрофобласт разрушен, цитотрофобласт местами располагается (светлые стрелки). В капиллярах апоптоз (темные стрелки), в строме апоптоз моноцитов (Δ). **2** – промоноциты Fc-gamma RIII (CD16 $\pm$ или CD16-) (темные стрелки) по сравнению с макрофагами беременной различается CD16(+) (светлые стрелки). **3, 4, 5** –промоноциты эмбрионов являются активными фагоцитами, наиболее интенсивны IgA, IgM и значительно слабее IgG, это связано с патогенностью антител и их количеством. **6** – из семи фагоцитов пять находятся в апоптозе (темные стрелки). **7** – в ворсинах фиброциты не подвергаются апоптозу, а иногда делятся (светлые стрелки). Все рисунки $\times 1000$.

Клетки стромы ворсин хориона. Мононуклеарные фагоциты, хотя и представлены почти в том же количестве, что и в норме (группа 1, Табл.4.5), но состав их резко изменился. Количество моноцитов уменьшилось, а основную массу этих клеток ($54.17 \pm 3.61\%$) составляют промоноциты. Это является результатом гибели значительной части моноцитов. В некоторых случаях разрушаются 90-100% моноцитов, они замещаются промоноцитами. В крови капилляров ворсин, в сосудах и полостях сердца эмбрионов иногда видны одиночные CD34+ - стволовые клетки проэритробластов или миеломоноцитарных клеток – следствие усиленной их пролиферации. Моноциты положительны с CD68, но окраска их менее интенсивна, чем на том же слайде окраска CD68+ макрофагов беременной в децидуальной ткани. Промоноциты не окрашиваются CD68, но положительны с CD14. Кроме того, промоноциты группы 4 содержат очень большое количество фаголизосом с иммуноглобулинами, которые хорошо различимы при окраске IgG, IgA и IgM. Очень большое количество фаголизосом с иммуноглобулинами имеется также в моноцитах. В срезах некоторых фагоцитов оно достигает до 100-150. В мононуклеарных фагоцитах в группе 4 соотношение содержащих иммуноглобулины иммунных комплексов (на оболочках клеток) и фаголизосом (в цитоплазме) составляет 21.52 : 78.48% (в группе 1 оно составляло 57.77 : 46.23%). Все это означает резкое увеличение количества патогенных иммуноглобулинов в случаях группы 4. Среднее количество фаголизосом в срезе моноцитов составляет 49.58 ± 2.86 , их количество в срезе промоноцитов 37.24 ± 2.68 ($p < 0.01$). Это означает, что фагоцитарные способности промоноцитов лишь незначительно меньше, чем у моноцитов. Среднее количество IgG, IgA и IgM в мононуклеарных фагоцитах группы 4 резко превышает их во всех исследованных группах 1, 2, 3А и 3В (Табл.4.9, Диаграмма 4.2). В цитоплазме фагоцитов имеется J-цепь в $67.84 \pm 3.35\%$ клеток (Табл.4.5), что несколько меньше, чем в группах 3А и 3В ($p < 0.05$). Количество пролиферирующих Ki67(+) мононуклеарных фагоцитов в ворсинах снижено по сравнению с группами 1 и 3А. Уменьшается также количество фагоцитов, содержащих IL2R α ($21.32 \pm 1.24\%$), рецепторы Fc gamma RIII α (CD16) и Fc gamma RII (CD32). Это следствие увеличения числа промоноцитов, не содержащих этих рецепторов.

В некоторых ворсинах значительная часть моноцитов и промоноцитов (до $35.7 \pm 6.42\%$) содержат p53, иногда также Fas и FasLigand, TUNEL положительны, распадающихся фагоцитов меньше. Часть эритробластов в капиллярах содержат IgG, IgA и менее IgM. Эти эритробласты находятся на разных стадиях апоптоза. На исходе апоптоза клетки капилляров распадаются на мелкие частицы, постепенно исчезающие без фагоцитоза. Пролиферирующие Ki67(+) клетки эндотелия капилляров отмечены только в 15.38% случаев, их среднее количество $1.96 \pm 0.84\%$ (Табл.4.4). Следствием этого является прекращение регенерации капилляров и увеличение числа аваскулярных и отечных крупных ворсин (Табл.4.2; 4.3). Фибробласты и единичные моноциты в строме ворсин апоптозу не подвергаются, коллагеновые волокна стромы без изменений. В аваскулярных и отечных (в которых сосуды не функционируют) ворсинах апоптоз отсутствует (Рис.4.15).

4.7.2. Плацента беременной

В децидуальной ткани в 67.4% случаев имеются небольшие некротические участки с умеренной лейкоцитарной инфильтрацией вокруг. Микрофлора имела в двух случаях: в одном была малая группа друз актиномицета, в другом – немного кокков. Мелкие свежие кровоизлияния, очевидно образовавшиеся во время аборта,

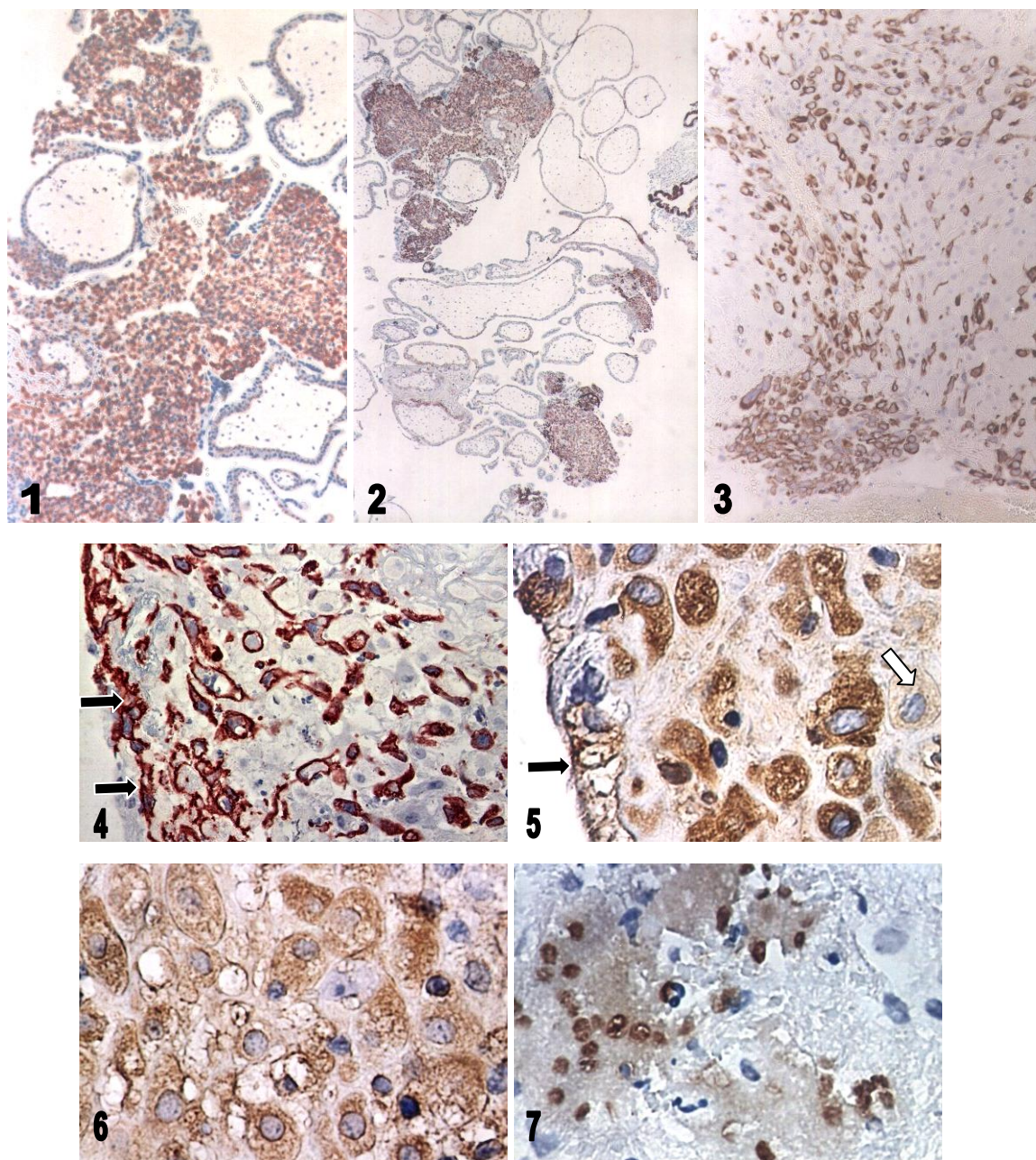


Рис.4.14. Группа 4. 1, 2 - значительное усиление пролиферирующего трофобласта. Он образуется из цитотрофобласта (см.Рис.4.2.1, 4.2.2, Рис. 4.3.1-4, Рис.4.12.5). Возрастает количество пролиферирующих клеток: Ki67(+) более 80%. 3 – ворсины с группами пролиферирующих клеток присоединяются к децидуальной ткани («якорные ворсины»). SC(+) пролиферативные клетки внедряются в ткань беременной и становятся инвазивным трофобластом. 4 – трофобласт лакун также образуется из пролиферативного трофобласта (темная стрелка). 5 – трофобласт лакун разрушен почти весь (темная стрелка), инвазивный трофобласт содержит SC и J-цепь, захватывает много иммуноглобулина. Децидуальные клетки вытесняются (светлая стрелка). 6 – многие инвазивные клетки разрушаются апоптозом. 7 – реакция TUNEL показывает апоптоз многих клеток, но децидуальные клетки беременной сохранены. Увеличение 1 – x100, 2 – x40, 3- x200, 4-7 –x1000

встретились в 20.9% случаев. В спиральных артериях в 11.7% отмечены единичные случаи пролиферации эндотелия.

Клеточный состав Т-лимфоцитов и НК существенно не отличались от остальных групп (Табл.4.6). Количество макрофагов несколько больше, чем в группах 1 и 2 ($p < 0.05$), не отличается от группы 3А, но вдвое меньше, чем в группе 3В. Фаголизосомы в макрофагах единичные. В-лимфоциты и плазмоциты претерпели существенные изменения. Количество В-лимфоцитов уменьшилось в спонгиозной зоне децидуальной ткани за счет превращения в плазмоциты и перемещения в компактную зону. Часть плазмоцитов также перемещается в компактную зону. Небольшое количество В-лимфоцитов и плазматических клеток свидетельствует об умеренной гуморальной иммунной реакции в децидуальной ткани.

Инвазивный трофобласт интенсивно фагоцитирует IgG, IgA и IgM, количество фаголизосом в цитоплазме среза клеток достигает 100-150, в среднем 51.73 ± 2.98 IgG, 47.11 ± 3.38 IgA и 42.45 ± 3.16 IgM (Табл.4.9) – в 3-5 раз больше, чем содержится в срезах клеток инвазивного трофобласта в 1, 2, 3А и 3В групп. Более значительно, чем в фагоцитах ворсин, в инвазивном трофобласте содержатся IgA и IgM. Отмечается частый апоптоз клеток инвазивного трофобласта и фагоцитоз его многоядерными клетками. Из-за этого количество его уменьшается (Таблица 4.4.) И это, несмотря на значительное перемещение пролиферирующего трофобласта в децидуальную ткань, где он превращается в инвазивный трофобласт

Межворсинчатые пространства свободны или содержат немного крови. Имеются мелкие сгустки фибрина в 12 случаях, множественный перивиллезный фибрин – в одном случае. Сгустки фибрина на 3.5-4 неделях развития имеются всего в 9.1% случаев, но на 5, 6, 7, 8 неделях количество случаев с мелкими сгустками фибрина встречается в 30.0-37.5% (Табл.4.10). Это показывает, что свертывание фибрина в рассматриваемых случаях группы 4 является осложнением, следствием разрушения апоптозом синцитиотрофобласта и, менее, цитотрофобласта.

Количество нейтрофилов в крови межворсинчатых пространств колеблется от единиц до 30 на $50000 \mu m^2$ площади слайда в 83.7% случаев, от 40 до 200 нейтрофилов в 16.3%, флора при этом не обнаружена. Состав иммунокомпетентных клеток изменен мало (Табл.4.7). Можно отметить лишь уменьшение количества Т-хелперов (CD4) и отсутствие изменения NK (CD56). Макрофагов (CD68+) по сравнению с группой 1 несколько меньше ($p > 0.1$), но резко меньше, чем в группах 3А и 3В ($p < 0.001$). Это свидетельствует о слабости антигенного раздражения в группе 4.

4.7.3. Заключение по группе 4

При исследовании случаев группы 4 перед нами стояли две главные задачи: первая - выявление общих патоморфологических, иммунологических и морфометрических изменений плацентарного барьера, их осложнений и сопутствующих заболеваний; и вторая – попытка выявления патогенных факторов, вызывающих эти изменения (см. Глава 5), с учетом изменений, происшедших в самих эмбрионах.

Исследования показали, что ведущим изменением является множественный апоптоз. Это не разрушение одиночных клеток, как это бывает при физиологическом апоптозе. В случаях группы 4 апоптоз охватывает в

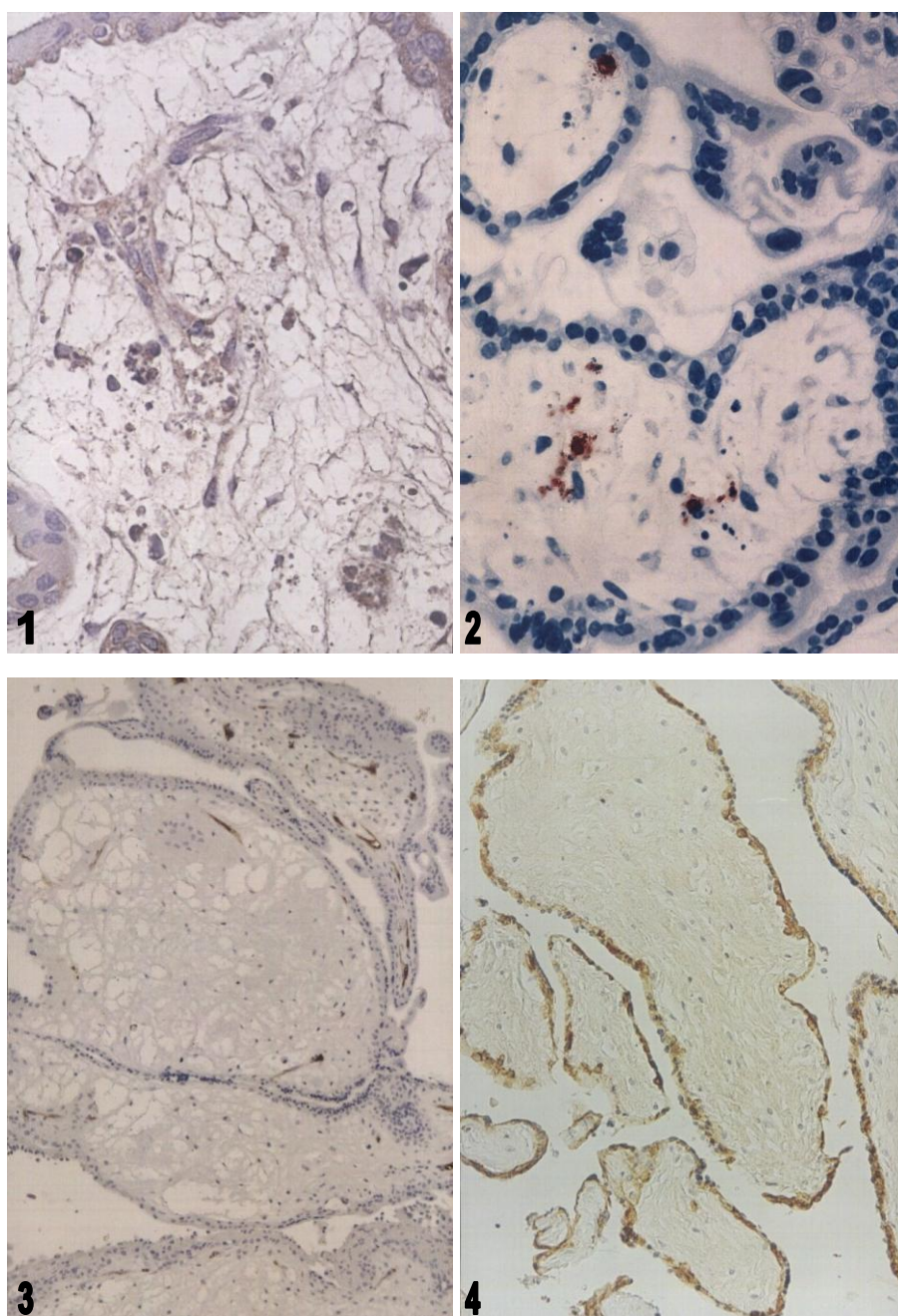


Рис.4.15. Группа 4. 3.5 – 7 недель. Прекращение функций, аваскулярные ворсины. **1** – апоптоз и дальнейшее разрушение трофобласта, капилляров и фагоцитов. **2** – CD34(+) выявляет красные остатки эндотелия капилляров. **3** – в верхней ворсине в основном сохранились капилляры (CD34(+)) и другие структуры. Три другие ворсины увеличены, отечны, местами видны CD34(+) остатки капилляров, спавшиеся, без эритробластов. Фагоциты отсутствуют, сохранились фибробласты. **4** – ворсины уменьшены, покрыты SC(+) трофобластом. Строма волокнистая, не отечная, имеются только фибробласты, другие клетки и следы капилляров отсутствуют. 1, 2 x400, 3, 4 x100.

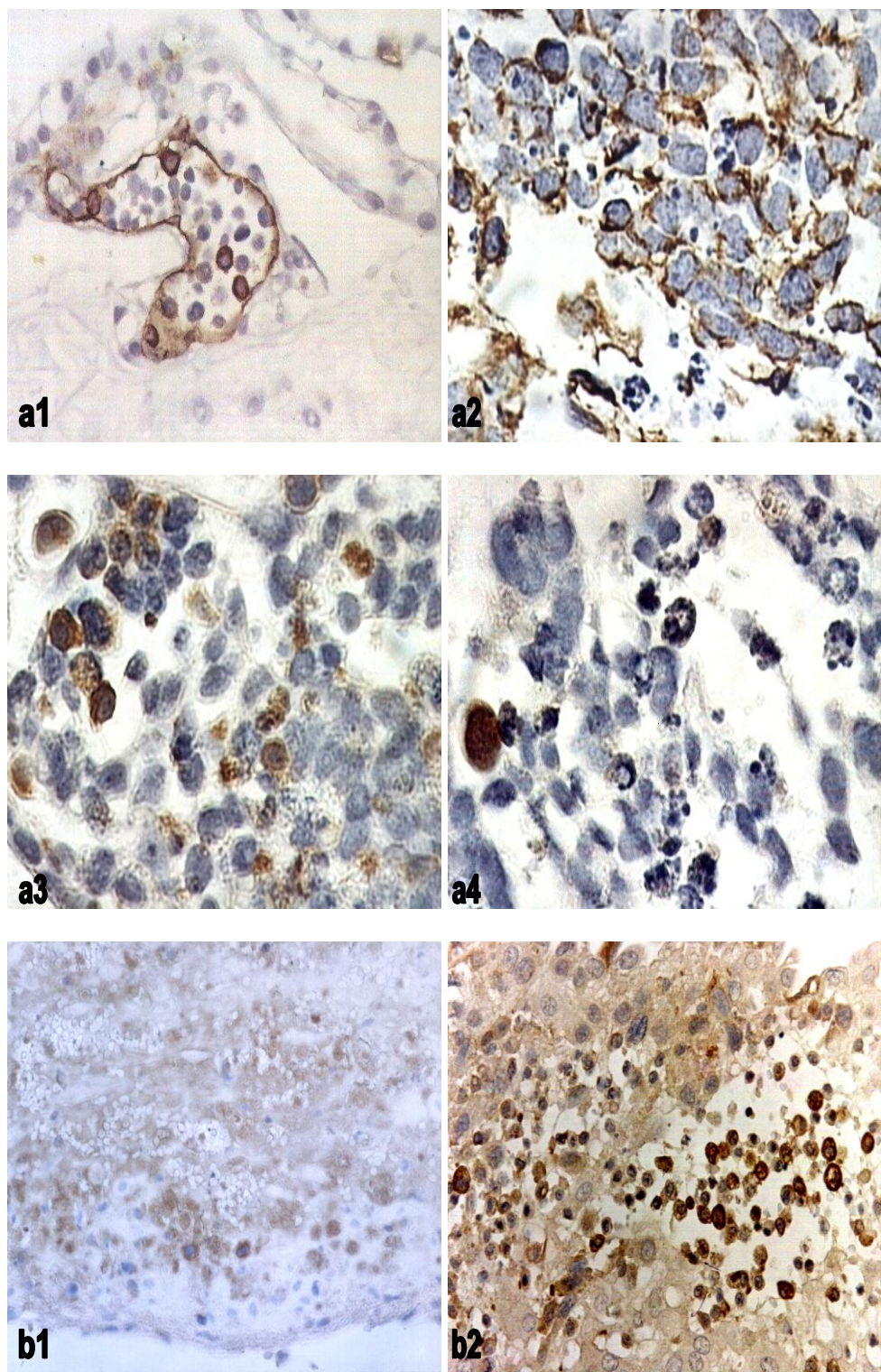


Рис.4.16. Группа 4. 4 – 8 недель развития. Вневорсинчатые ткани. **А** – желточный мешок: **a1** - появились CD34(+) BFU-E - предшественники эритробластов. **a2, a3, a4** – содержатся клетки гемопоэза и другие первичные клетки группы моноцитов, 37 – 45% их находятся в состоянии апоптоза. Многие из них содержат IgG(+), значительно меньше – IgA(+), **В** – децидуальная ткань: **b1**- многие трофобласты в апоптозе и сжатые децидуальные клетки гибнут, видны крупные участки разрушенных клеток обоих видов, **b2** - скопления в зоне воспаления В-лимфоцитов IgA(+) и других клеток. a1 x400, a2-4 x1000, b1 x200, b2 x400.

плацентарном барьере различные участки, находящиеся в контакте с тканями беременной – с децидуальной тканью и кровью. Ими являются пять видов трофобласта: 1) - инвазивный, 2) - трофобласт покрывающий лакуны с кровью беременной, 3) - синцитиотрофобласт, 4) - пролиферирующий трофобласт ворсин и слабее – 5) - цитотрофобласт, прикрытый синцитиотрофобластом. Поражаются также клетки, находящиеся в ворсинах хориона и участвующие в транспорте иммуноглобулинов наряду с другими веществами. Это эндотелий и эритробласты капилляров и мононуклеарные фагоциты, которые находятся в строме ворсин. Во всех этих структурах и в участках апоптоза выявляются Fas, FasLigand и p53, а также положительная реакция TUNEL (Рис.4.11 - 4.14).

Одновременно поражается только часть ворсин, в среднем $18.53 \pm 4.01\%$ от их общего числа. В ворсинах также обычно разрушается только часть трофобласта, участки некоторых капилляров с находящимися в них эритробластами и некоторые мононуклеарные фагоциты. Строма ворсин – фибробласты, миоциты и коллагеновые волокна - не изменяются (Рис.4.13, 4.15).

По литературным и нашим данным (Cotran R.S. et al., 1999; Mor G. et al., 2003; Abrahams V.M., 2004; Halperin R., et al., 2008; см. также глава 5.2) период полного разрушения каждой клетки при апоптозе продолжается 2 - 18 часов. Апоптоз тканей ворсин начинается на 3.5-4 неделях развития и продолжается до 8 недель. Как показали морфометрические подсчеты (Табл.4.10) количество пораженных апоптозом ворсин на всех этих 5 неделях существенно не изменяется: от 10.36 ± 2.1 до 13.85 ± 2.12 ($p > 0.1$). Это означает, что действие патогена, вызывающего апоптоз, продолжается непрерывно до аборта с почти одинаковой небольшой интенсивностью, охватывая все новые и новые участки ворсин и другие ворсины.

Апоптоз - это деструктивный процесс, он приводит к развитию нескольких осложнений. Разрушения участков синцитиотрофобласта и, меньше, цитотрофобласта, а также трофобласта, покрывающего лакуны, создают дефекты, изъязвления, которые могут отчасти покрываться сгустками фибрина (см. Рис.4.12). На 3.5-4 неделе, в начале процесса, сгустки фибрина имеются в 9.1% от общего числа случаев, еще в 2.33% имелись небольшие группы ворсин с разрушенным трофобластом, покрытые фибрином. Во все последующие недели (5, 6, 7, 8) свернувшийся фибрин наблюдался в 30-37.5% случаев (Табл.4.10). Это означает, что апоптоз предшествует образованию фибрина, фибрин прикрывает дефекты трофобласта ворсин, оставшиеся после апоптоза. Отсюда можно заключить, что ранние аборт не имеют никакого отношения к антифосфолипидному синдрому Hughes.

Апоптоз разрушает также отдельные участки капилляров ворсин, иногда несколько петель капилляров в одной ворсине одновременно, приводя к их полному исчезновению вместе с эритробластами. В нормальных условиях капилляры ворсин в конце I и во II триместрах продолжают пролиферировать, но капилляры, разрушенные апоптозом, не восстанавливаются (Рис.4.12, 4.15). Это связано с глубоким угнетением пролиферации эндотелия; единичные Ki67 – положительные клетки обнаружены только в 15.4% случаев. В результате количество аваскулярных ворсин увеличивается в 3 раза, а среднее количество капилляров в ворсинах снижается в 2.6 раза. Количество ворсин с сохранившимися капиллярами на 3.5-6 неделях понемногу уменьшается с 38.4% до 32% ($p > 0.1$), на 7 и 8 неделях резко падает до 16.44% и 19.68%, соответственно (см. Табл.4.10).

В этом заложено еще одно осложнение апоптоза в ворсинах – увеличение количества крупных аваскулярных и отежных ворсин. Разрушение всего

трофобласта на ворсине происходит редко, цитотрофобласт под разрушенными участками синцитиотрофобласта может сохраниться. Через эти участки цитотрофобласта в ворсину поступает вода и другие компоненты обмена. Но отток воды из аваскулярных ворсин прекращен, а из частично сохранившихся капилляры – резко снижен. В результате строма этих ворсин резко отекает, размеры значительно увеличены (Рис.4.15). Количество их в начале растет, а на 6-8 неделях несколько снижается. Это уменьшение связано с отторжением абортотрофобласта и сохранением менее пораженных. Большое количество нефункционирующих ворсин – аваскулярных, отекающих, с уменьшенным числом капилляров, когда их сочетание достигает 70%, а иногда 100%, приводит к прекращению функций плаценты и удалению ее.

Так за апоптозом следует серия осложнений. Это образование сгустков и пленок фибрина на разрушенных участках синцитио- и, менее, цитотрофобласта, которое имитирует антифосфолипидный синдром. Разрушение капилляров ворсин без восстановления их приводит к образованию крупных отекающих бессосудистых или малососудистых ворсин. К этому добавляется разрушение эритроцитов, гибель моноцитов с недостаточной заменой их промоноцитами и массовая гибель инвазивного трофобласта – все это следствие апоптоза. В результате происходит тяжелое нарушение плацентарного барьера не только в обмене веществ через него, но и в иммунной защите, которую осуществляют мононуклеарные фагоциты и инвазивный трофобласт (см. Глава 5.2)(Рис.4.11, 4.12, 4.15).

Кроме осложнений апоптоза в развивающемся заболевании иногда (67.4% случаев в группе 4) встречались воспалительные процессы в виде небольших участков некроза децидуальной ткани с незначительным лейкоцитарным окружением (см.Рис.4.16.b1). В одном из них имелись несколько друз актиномицетов. В лакунах в 16.3% случаев имелось повышенное количество лейкоцитов (до 70 на 50000 μm^2 площади среза). Микрофлора во всех этих случаях не выявлялась. Воспалительные и некротические процессы в ворсинах также отсутствуют. Эти изменения значительно отличаются от наблюдавшихся в группах 3А и 3В и не являются причиной массового апоптоза в группе 4. Существенного влияния эти умеренные процессы на состояние заболевания в группе 4 не оказывают и относятся к сопутствующим заболеваниям.

* * *

В процессах, происходящих в случаях группы 4, активное участие принимают иммунные механизмы, как в эмбриональной части плацентарного барьера, так и части беременной. Особенностью группы 4 является очень большой фагоцитоз иммуноглобулинов моноцитами, промоноцитами и вневорсинчатым трофобластом (Диаграмма 4.2; Табл.4.9 и 5.3. Рис.4.13, 4.14, 4.16). В группах 1, 2, 3А, 3В количество фаголизосом в срезе одного фагоцита, в цитоплазме (без учета транспортных иммунных комплексов в капсулах – Simister N.E., 1998, 2003) содержится каждого – IgG, IgA и IgM от 0.96 ± 0.25 до 14.5 ± 1.69 . В группе 4 в тех же условиях в фагоцитах содержится от 15.37 ± 1.34 до 47.58 ± 2.66 фаголизосом. На срезах некоторых фагоцитов в группе 4 нередко можно видеть 100-150 фаголизосом с каждым - IgG, IgA и несколько меньше IgM. В пересчете на площадь всех срезов 3 мкм толщиной количество фаголизосом с IgG, IgA и IgM в одной клетке может достигнуть 1200-2200.

Иммунные реакции эмбриона проявляются в серии процессов. В желточном мешке и в строме ворсин происходит резкое увеличение количества промоноцитов в

сравнении с моноцитами (Табл. 4.5, Рис.4.13). Значительно возрастает фагоцитарная активность обоих видов мононуклеарных клеток (Рис.4.13 и 4.14). Также значительно возрастает пролиферативность трофобласта на ворсинах: увеличивается количество и размеры пролиферативных узлов, связывание их с децидуальной тканью беременной («якорные ворсины») (Табл.4.9, Диаграмма 4.2, Рис.4.14), а затем перемещение клеток трофобласта на лакуны и в децидуальной ткани. Здесь они активно фагоцитируют иммуноглобулины, а затем сами разрушаются массовым апоптозом (Рис.4.6).

Фагоцитоз IgG этими видами трофобласта лишь немногим больше, чем фагоцитоз моноцитов и промоноцитов, но IgA и особенно IgM фагоцитируются гораздо больше (Рис.4.13). Это связано с тем, что при иммунном конфликте значительно увеличивается образование антител IgM В-лимфоцитами (Таблицы 4.6., 4.7). Имеет значение также то, что фагоциты ворсин получают столько иммуноглобулинов, сколько их проходит через плацентарный барьер, а трофобласт, контактирующий с кровью и децидуальной тканью беременной, имеет больше возможностей в этом отношении.

В децидуальной ткани иммунокомпетентные клетки беременной из числа Т-лимфоцитов (CD3, CD4 хелперы, CD8 цитотоксические, а также CD56 NK), участвующие в реакциях клеточного иммунитета, не изменяют существенно количество во всех исследованных группах – от 1 контрольной до группы 4 (Табл.4.6). Реакции цитотоксических клеток и NK происходят в контакте с клетками, подлежащими разрушению. Но в тканях эмбриона, в ворсинах хориона и даже на поврежденной поверхности ворсин эти клетки отсутствуют, а отсутствие контактов цитотоксических Т-клеток и NK с клетками, подлежащими разрушению, позволяет отрицать наличие реакций клеточного иммунитета.

Меняющиеся количества иммунокомпетентных клеток беременной, участвующих в гуморальных иммунных реакциях – В-лимфоцитов, плазмочитов и макрофагов, в сочетании с последующими патологическими процессами, развитием осложнений, позволяет определить интенсивность происходящих иммунных реакций. Например, большое количество упомянутых клеток в случаях группы 3В, гематогенные осложнения, некрозы, массовый апоптоз, дают основание считать эти случаи группы 3В из рассмотренных наиболее тяжелыми. Менее интенсивное накопление тех же иммунных клеток в группе 3А и меньше осложнений свидетельствует о менее тяжелом течении этой бактериальной инфекции.

В группе 4 изменение количества CD20, CD79А и CD68 менее значительны, чем в группе 3В и интенсивнее, чем в группе 3А. Это показывает умеренный синтез иммуноглобулинов в группе 4. Это может быть следствием небольшого антигенного возбуждения от презембриона и эмбриона, имеющие в этом периоде размеры доли миллиметра или единичные миллиметры. Малое количество CD20 в спонгиозной и компактной зонах децидуальной ткани и особенно в группе 3В связано с превращением его в плазмочиты. В группе 4 эти превращения невелики, что также подтверждает небольшое антигенное возбуждение.

IgM вырабатывается первым из других иммуноглобулинов при иммунных гуморальных реакциях, затем синтез его уменьшается, а образование IgG и IgA увеличивается. Значительное количество IgM в сравнении с IgG и IgA, которые захватываются инвазивным трофобластом в децидуальной ткани (Табл.4.9) позволяет считать недавнее начало иммунной реакции.

Состояние иммунокомпетентных клеток группы 4 показывает, что в децидуальной ткани беременной происходит гуморальная иммунная реакция. Ее результатом является образование IgG, IgA и IgM в почти одинаковом количестве.

Это позволяет полагать, что синтез этих иммуноглобулинов начат недавно. Они интенсивно фагоцитируются инвазивным трофобластом и мононуклеарными фагоцитами в гораздо большем (в 4 раза) количестве, чем в группах 1, 2, 3А и 3В (Табл.4.9). И это притом, что в группе 3В при бактериальной инфекции количество плазмочитов вдвое больше, чем в группе 4. Все приведенное позволяет считать, что иммуноглобулины, фагоцитируемые в группе 4, воспринимаются фагоцитирующими клетками как иммунологически несовместимые. Иммуноглобулины беременной в первую очередь поражают все виды трофобласта. Несколько слабее это происходит в цитотрофобласте, но он отчасти прикрыт синцитиотрофобластом. Это показывает, что один из антигенов трофобласта является причиной раннего аллогенного конфликта.

4.8. Заключение по главе 4

1. Плацентарный барьер включает в себя не только «от крови беременной до крови эмбриона» и не ограничивается обменом от беременной к зародышу и от зародыша к беременной. В нем функционируют элементы ведущего значения в отборе и разрушении патогенных для зародыша веществ. Это инвазивный трофобласт, находящийся в децидуальной ткани беременной, и трофобласт покрывающий лакуны с кровью беременной. Они являются передовой линией защиты плацентарного барьера эмбриона. Имунокомпетентные клетки беременной в децидуальной ткани тоже участвуют в защите плацентарного барьера со стороны беременной, но в определенных пределах. Мононуклеарные фагоциты ворсин также интенсивно защищают границу барьера, но уже с эмбриональной стороны.
2. Свертывание фибрина на поверхности ворсин хориона и в сгустках в полости лакун в основном является повреждением поверхностных тканей ворсин от различных бактериальных инфекций и патогенных иммунных процессов. Количество случаев антифосфолипидного синдрома Hughes в акушерской практике значительно преувеличено.
3. В исследованных случаях бактериальные инфекции и аллогенные конфликты происходят с участием гуморальных иммунных реакций и иммуноглобулинов. Признаки клеточных иммунных реакций не отмечены.
4. Из всех исследованных нами случаев острая бактериальная инфекция в качестве основного или сопутствующего заболевания имела в эмбриональном периоде в 63.4% случаев, в раннем фетальном периоде – в 55.3%. Столь большое количество острых инфекций позволяет предполагать, что в I и II триместрах беременности это является следствием снижения иммунного состояния матки и всего организма беременной.
5. IgG, IgA, IgM в случаях группы 4 синтезируются В-лимфоцитами и плазмочитами беременной, а затем интенсивно фагоцитируются и разрушаются инвазивным трофобластом, трофобластом на поверхности лакун и мононуклеарными фагоцитами в 3-5 раз более интенсивно, чем при бактериальных инфекциях. После этого сами фагоциты и другие клетки, которые контактируют с иммуноглобулинами (эритробласты и эндотелий капилляров) подвергаются множественному апоптозу. Весь комплекс этих реакций дает основание считать, что упомянутые иммуноглобулины беременной являются патологическими для фагоцитирующих клеток и многих других видов клеток преэмбрионов и эмбрионов, вызывая ранний аллогенный конфликт.

Глава 5. Состояние эмбрионов и плодов при раннем аборте. Аллогенный конфликт

5.1. Ранние спонтанные аборт

В настоящее время ранние спонтанные аборт являются значительной проблемой не только акушерства и даже не только медицины. Это социальная проблема большой утраты будущих поколений. Имеются данные об абортах до имплантации, во время ее и позже (Clark D.A., 2003) с частотой 15-31% (Wilcox A., et al., 1988; Kutteh W.H., 1999), до 40% (Кулаков В.И. и др., 2005), 50% (Волощук И.Н., 2002) и даже 70% (Girardi G., Salmon J.B., 2003) от общего количества оплодотворенных. Много неясностей в возникновении раннего аборта в эмбриональном периоде. В США страдают от повторных выкидышей 1-3% женщин (Girardi G., Salmon J.B., 2003). Недостаточность знаний в этой области проявляется в том, что причина этих аборт в 50% случаев остается неизвестной (Sargent I.L., 1993). За 17 лет, прошедших с тех пор, существенных изменений не произошло. Все еще в ходу такие распространенные диагнозы как внутриматочное ограничение развития (IUGR), ранняя утрата беременности (missed abortion, pregnancy rests and blight) и другие. Они не определяют причину развития аборта, его предотвращение и лечение. Некоторые исследователи связывают их с аллогенными конфликтами (Jerzan M., Bischof P., 2002; Bulla R. et al., 2003).

Этиология ранних спонтанн аборт многообразна. Мы только перечислим менее частые из них. Они могут быть следствием врожденных пороков матки вследствие аномалий протока Muller (Dendrinis S. et al., 2005), патологии плаценты (Burton G.J., Jauniaux E., 2004), генетических нарушений, возникающих вследствие аномалий митоза или мейоза спермиев, яйцеклеток или преэмбрионов. Возможно наследование генетических пороков одного из родителей. Драматический рост случаев синдрома Дауна связано с увеличением возраста матери, вернее – возраста ее яйцеклеток, слишком долго ожидавших своей очереди. Возможной причиной раннего аборта могут быть хронические заболевания беременной (lupus erythematosus, болезни сердца и почек, диабет, HIV) (Brocklehurst P., French P., 1998; Wenstrom K.D., et al., 1998). Ранними повторными абортами неясного патогенеза могут осложниться эндокринные заболевания (Li T.S., et al., 2000; Lazarus J.H., 2005) или биохимические нарушения (George L., et al., 2002).

Одним из таких заболеваний является антифосфолипидный синдром Hughes, основным проявлением которого является появление антител IgG, IgA, IgM к фосфолипиду – кардиолипиду (von Landenberg P. et al., 2003). Их появление вызывает резкое повышение свертываемости крови в сосудах различных органов, в том числе в сосудах плаценты, что осложняется повторными (3 и более) сверх ранними и ранними абортами или гибелью плода до 34 недель при отсутствии морфологических, гормональных или хромосомных нарушений у матери (Cowchook S., 1998; Милованов А.П. и др., 2005; Shoenfeld Y., et al., 2006;). Но имеются и сомнения. Перивиллезное тромбообразование отмечалось у курящих женщин (Mayhew T.M., et al., 2003A; Vogt Isaksen C., 2004), при диабете беременной

(Mayhew T.M., Sampson C., 2003B), у женщин, живущих на большой высоте (Mayhew T.M., Bowles C., Yucel F., 2002). Out H.J., et al. (1991) определили, что для установления диагноза антифосфолипидного синдрома, кроме перивиллезного тромбообразования во время беременности, необходимо наличие волчанки и фосфолипидных (кардиолипидных) антител. Однако, из 102 обследованных больных положительные результаты наблюдались только у 21. У остальных противоречивые причины исхода беременности остались неизвестными. Семинар «Медицина плодов и новорожденных» в своем заключении отметил, что применение антикоагулянта – гепарина является в подобных случаях спорным (Chaddha V., et al., 2004). Сходные заключения сделаны рядом авторов. Они приводят соображения о сомнительности связи антифосфолипидного синдрома со всеми случаями повторных ранних аборт и нецелесообразности применения любых антисвертывающих сывороток, гепарина и аспирина (Coulam C.B., et al., 1995; Daya S., et al., 1998; Sher G., et al., 1998; Branch D.W., et al., 2000; Carp H.J.A., et al., 2001; Vaquero E., et al., 2001; Clark D.A., et al., 2006; Carp H.J.A., 2007). Carp H.J.A. (2007) считает главной причиной повторных ранних утрат беременности хромосомные абберации. И все же сторонники аспирина и гепарина находят – «эта терапия может быть полезной для необъяснимых случаев возвратных абортов» (Levi A.J., 2008).

Приведенные сведения литературы показывают, что образование фибрина на ворсинах хориона может произойти по самым разным причинам. По нашим данным (Глава 4) в контрольных случаях (группа 1) фибринообразования на ворсинах не отмечено. В группе 2 перивиллезный фибрин имелся во всех пяти случаях. В группах воспаления (3А и 3В) сгустки фибрина были, соответственно, в 46,1% и 22,2% случаев, а фибрин в группах ворсин в 30,8% и 33,3%. При аллогенном конфликте (группа 4) сгустки фибрина, главным образом на апоптотизированном синцитиотрофобласте были в 27,9% случаев, а сгустки вокруг групп ворсин – в 13,9%. Таким образом, образование фибрина в виде небольших и крупных участков вокруг групп ворсин отмечено в группе 2 в 100% случаев, в группах 3А и 3В в 76,9% и 55,5%, соответственно, и в группе 4 в 41,9%. Эти изменения являются осложнениями основных заболеваний – бактериальных воспалений в группах 3А и 3В или аллогенного конфликта – в группе 4. Синцитиотрофобласт при этом повреждается небольшими участками или группами ворсин. Повышение уровня IgG, IgA и IgM (von Landenberg P., et al., 2003) может быть следствием синдрома Hughes, но также следствием воспалительных или иммунологических процессов при аллогенном конфликте. В итоге - связь ранних самопроизвольных абортов с антифосфолипидным синдромом Hughes, если и имеется, то в редких случаях.

5.2. Апоптоз физиологический и патологический при ранних абортах

Апоптоз является своеобразной формой разрушения клеток. Он характеризуется программированностью уничтожения и возможным образованием новых клеток на месте разрушенных. Апоптоз был исследован и отделен от некроза Kerr J.E., et al. в 1972 году. Разрушение происходит по определенному плану и регулируется группами белков. Одна из них Fas и FasLigand, другая - p53, а комплекс bcl-2 предотвращает развитие апоптоза, в частности у эмбрионов

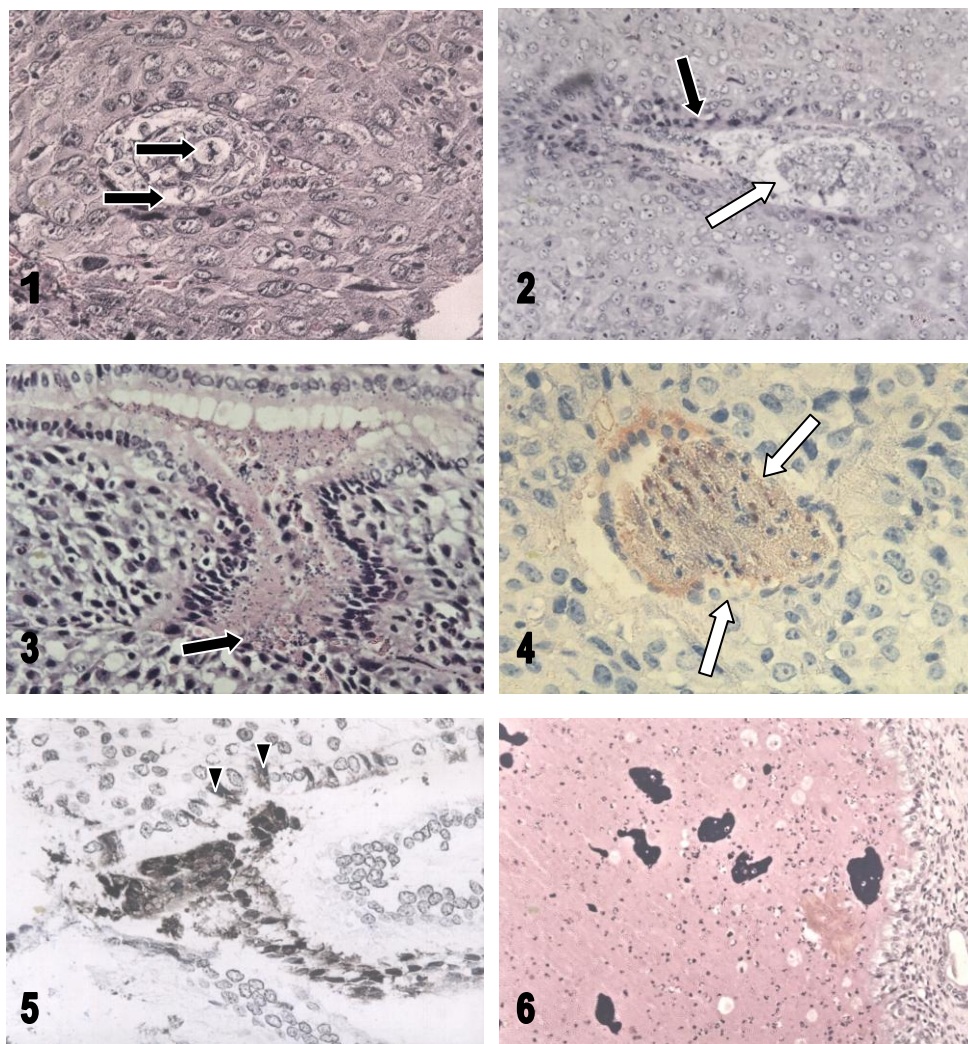


Рис.5.1. Развитие апоптоза у крыс. **1** – контроль: нормальная морула в децидуальной ткани, сыворотка женщины не вводилась в маточную трубу через 6 дней после оплодотворения. При забое через 4 и 8 часов ткани зародыша без изменений, есть митозы клеток (темные стрелки). **2** – при введении сыворотки женщины через 2 часа: ядра клеток пикнотичные (светлая стрелка) или в апоптозе (темная стрелка). **3** – забой через 4 часа: почти все клетки зародыша в апоптозе или распались, местами трофобласт также в апоптозе (темная стрелка). **4** – через 6 часов клетки разрушены, также часть трофобласта (светлые стрелки). **5** – TUNEL+ большинство клеток зародыша и некоторые – эпителия слизистой крысы (▲). **6** – через 2 суток после введения сыворотки: тотальный некроз децидуальной ткани крысы, местами участки петрификации. Увеличение 1, 3, 4, 5 x400, 2 x200, 6 x100.

человека (Lichnovsky V., et al., 1996). В выполнении апоптоза участвуют также белки каспазы 2, 3, 6, 7, 8, 9, 10. Соотношения комплексов этих белков в течение эмбриогенеза, их тканевая специфичность и стадийные функции имеют большое значение в формировании органов (Lichnovsky V., et al., 1998). Происходит апоптоз чаще всего в одиночных клетках или в мелких группах их. Клетки теряют контакт с соседними клетками, ядра в них сморщиваются и разделяются на части вместе с органеллами клеток, образуя апоптозные тельца. Их фагоцитируют макрофаги или соседние клетки.

Биологическая роль апоптоза – поддержание гомеостаза и равновесия в организме, замена ненужных, старых или измененных клеток. Причины и условия развития апоптоза разнообразны. Он может быть физиологическим, плановым в развитии организма или патологическим.

Во время нормальной беременности апоптоз является подлинно физиологическим (Smith S.C., Baker P.N., Symonds E.M. 1997; Gao F., et al., 2001) и широко распространен. В децидуальной ткани инвазивный трофобласт готовит ложе для имплантации преэмбриона и для лакун материнской крови путем апоптоза (Garcia-Lloret M.J., et al., 1996; von Rango V., et al., 2003). В эмбриональном периоде в процессе органогенеза происходит запрограммированная деструкция клеток и замена их другими. Это разрушение остатков кармана Rathke при образовании передней доли гипофиза, в процессе превращения протоков Muller и Wolff в женские или мужские половые органы, при разрушении пронефроса и мезонефроса, перегородок в глотке и в анусе, при создании половых и мочевых путей и многие другие (Huppertz B., Kingdom J.C., 2004).

Большое количество публикаций касается учащения апоптоза в инвазивном трофобласте и синцитиотрофобласте при абортах в I триместре (Huppertz B., et al., 2005; de Falco M. et al., 2005). Отмечается присутствие Fas и FasLigand и значительное количество апоптозирующих клеток. Трактовки причин возникновения апоптоза трофобласта слишком разнообразны, чтобы считать их подлинными: выдвигаются предположения, что апоптоз является регуляцией при излишнем развитии эмбриона; что он – следствие плацентарной гипоксии и нарушения снабжения зародыша кислородом. Подчеркивается разрушающее действие децидуальных иммунных клеток, в частности - макрофагов. Или группы апоптоза расцениваются как защитный механизм против отторжения эмбриона путем уменьшения активности NK и Т-клеток (Streilein J.W., 1995; Tafuri A., 1995; Simpson E., 1996; von Rango V., et al., 2003). Но большинство перечисленных вариантов уже не физиологические, а патологические процессы, они не предусмотрены в генетическом плане развития зародыша. Иногда предполагается конфликт или связи матери и эмбриона, но их сущность не освещается; или возможность экзогенной стимуляции, в том числе инфекции. Высказано мнение, что апоптоз является поддержкой привилегии зародыша, или что имеет место аллогенный конфликт. В отдельных случаях подчеркивается отсутствие каких-либо других изменений у эмбриона кроме апоптоза. Предположено, что апоптоз начинает развиваться у преэмбриона и очень усиливается к спонтанному аборту (3-8 недель) вследствие аллогенного конфликта беременной и эмбриона (Allison J. et al., 1997; Kang S.M., et al., 2000; Frangsmur L., et al., 2005; Vacchio M.S., Hoges R.I. 2005).

Патологический апоптоз также происходит часто, когда требуется убрать клетки, измененные внешним воздействием (Levi R., Nelson D.M., 2000). Причиной его могут быть злокачественные опухоли, когда апоптоз может разрушать малигнизированные клетки; при воспалительных процессах; нервно-дегенеративных болезнях; при инфекциях и иммунных воздействиях у взрослых и

эмбрионов (Bosman F.T., et al., 1996; Kokawa K., et al 1998); в плаценте при диабете у беременной (Sgarbosa F., et al., 2006); при инфекции вируса гриппа у плодов человека (Uchide N., et al., 2005). Патологический апоптоз изучен недостаточно, и авторы часто не обращают внимания на патологическую причину развития апоптоза.

Патологический апоптоз отличается от физиологического рядом особенностей. Он возникает от патологических процессов, таких как бактериальные, вирусные, гормональные, химические, иммунные воздействия и, по-видимому, это не исчерпанное перечисление. Наглядным примером патологических апоптозов являются апоптоз при бактериальном воздействии в группе 3В и аллогенные воздействия в группе 4, а также большинство перечисленных выше. Другая особенность патологического апоптоза – это множественность, а иногда – массовость изменений, распространение в разных органах, на которые воздействует патоген. Начальные изменения клеток – распад ядер и других клеточных структур – аналогичны с физиологическим апоптозом. Этот этап продолжается несколько часов (Majno G., Joris I., 1995; Bosman F.T., et al., 1996), а затем частицы клеток не фагоцитируются макрофагами или соседними клетками как при физиологическом апоптозе, а полностью разрушаются.

Halperin P. et al. (2008) при нашем участии провели исследования на крысах, которым на 6 день после фертилизации вводили в маточную трубу сыворотку крови женщины. Забой производили через 2, 4, 6, 8, 18 часов, 2, 4, 6 дней (Рис.5.1.). Это дало возможность проследить развитие стадий апоптоза у преэмбрионов за 2-8 часов, превращение их в сплошной некроз с мелкими участками обызвествления. Таким образом, слагаются следующие этапы патологического апоптоза при действии иммуноглобулинов: 1) - IgG, IgA, IgM выявляются во внешне нормальных клетках, 2) – апоптоз: пикноз и фрагментация ядра клетки, иммуноглобулины сохраняются, 3) – распад клетки на мелкие гранулы, иммуноглобулины разрушены, 4) – при апоптозе крупных групп клеток мелкозернистая масса их не фагоцитируется, на их месте происходит фиброзное замещение и (или) петрификация на 3-6 день. Coreia-da-Silva G., et al. (2004) назвали такое завершение – «клеточная смерть апоптозом и вторичным некрозом».

Сходные изменения отмечаются в наших наблюдениях апоптоза в тканях плацентарного барьера эмбрионов при инфекциях (глава 4.6, группа 3В) и при иммунном конфликте (глава 4.7, группа 4), когда апоптозируются участки синцитиотрофобласта, цитотрофобласта, а также скопления инвазивного трофобласта и трофобласта, покрывающего лакуны, но до фиброза и петрификации процесс не доходит из-за наступившего аборта. Кроме того, в децидуальной ткани в группах 3А, 3В, 4 имеется большое количество макрофагов беременной, и они активно фагоцитируют остатки инвазивного трофобласта (Kokawa K., et al., 1998; Ohshima K., et al., 2001; Bulla R., et al., 2003; Ben-Hur H., et al., 2005; Uchide N., et al., 2005; Gurevich P., et al., 2007).

5.3. Транспорт иммуноглобулинов к эмбриону

Большое значение в развитии зародыша имеет поступление иммуноглобулинов беременной – как в защите от микрофлоры и других патогенов, так и в возможности аллогенных антител, угрожающих ему. Транспорт иммуноглобулинов через плацентарный барьер от беременной в зародышевую часть барьера осуществляется большим количеством разных рецепторов. Это SC и J-цепь – полииммуноглобулиновые рецепторы, они транспортируют различные

иммуноглобулины (Jauniaux E. et al., 1995; Ben-Hur H. et al., 2001). Рецепторы Fc gamma RIII α (CD16), Fc gamma RII (CD32) и Fc gamma RI (CD64) специализируются на транспорте IgG (Kristoffersen E.K. et al., 1990; Bright N.A. et al., 1994; Simister N.E. et al., 1996; Simister N.E. 1998, 2003; Han P., Hodge G., 1999). Рецепторы Fc epsilon RI и RII (CD23) транспортируют IgE при атопии беременной (Sverremark Extrom E. et al., 2002). Имеются и другие рецепторы. Транспорт иммуноглобулинов от беременной к эмбриону и плоду представляется достаточно исследованным. Он рассматривался в руководствах “Fundamental immunology” ed. W.E. Paul; “Mucosal immunology” eds. P.L. Ogra et al; “The human placenta” eds C.W.G. Redman et al; “Patterns pathology of the fetus and infants” ed. E.Gilbert-Barness; “Medicine of the fetus and mother” eds. E.A. Reece, J.C. Hobbins; “Immunologic disorders in infants and children” eds. E.R. Stiehm, V.A. Fulgini; “Developmental pathology of the embryo and fetus” eds. J.E. Dimmick, D.K. Kalousek; «Внутриутробное развитие человека» ред. А.П. Милованов, С.В.Савельев, а также в большом количестве публикаций. Но ряд авторов (Bright N.A, Ockleford C.D, Anwar M., 1994; Simister N.E. et al., 1996; Simister N.E. 1998 и другие) отмечают неясность многих сторон транспорта иммуноглобулинов через плацентарный барьер и ввод их в кровеносную систему **плода**. N.E.Simister (2003) писал: “The mechanism of Igs transport across the endothelium of the fetal capillaries is not understood... However, it is not known whether this receptor transports IgG or prevents transport of immune complexes to the fetus”.

По нашим данным в транспорте иммуноглобулинов у **эмбрионов** участвует СИС. После транспорта через синцитиотрофобласт и цитотрофобласт иммуноглобулины попадают в строму ворсин, в которой близко от слоев трофобласта находятся капилляры. В их эндотелии содержится J-цепь. Функция ее – эндоцитоз, ввод иммуноглобулинов в клетки (Emansipator S.N. et al., 1990, см. разделы 1, 2, 3). Функция другого рецептора SC - экзоцитоз, выведение иммуноглобулинов из клетки (Simada S-J. et al., 1999). В эндотелии капилляров ворсин он содержится изредка и в незначительном количестве: это означает, что он здесь не функционирует. Таблица 5.1. показывает, что в желточном мешке, где образуются эритробласты, количество их, соединенных с иммуноглобулинами и J-цепью незначительно – менее 8%. В капиллярах ворсин количество эритробластов с иммуноглобулинами доходит до 18%, а в полостях сердца – до 30% в случаях без патологических процессов (группа 1). SC, исполняющий экзоцитоз иммуноглобулинов четко содержится в сосудах органов – селезенки, легких и других. Это значит, что иммуноглобулины здесь выделяются из сосудов в ткани органов.

Таким образом, один из путей транспорта иммуноглобулинов в эмбрионы представляется следующим: из крови беременной в лакуне через синцитио- и цитотрофобласт различные рецепторы переносят их в строму ворсин хориона. Затем J-цепь эндотелия вводит их в кровь капилляров ворсин, где J-цепь и иммуноглобулины соединяются с эритробластами и с ними переносятся в сосуды органов эмбриона. Здесь SC выводит их в ткани окружающих органов.

Таблица 5.1. Количество эритробластов, транспортирующих иммуноглобулины к эмбриону (% эритробластов, содержащих J-цепь и иммуноглобулины)

Локализация	J-цепь и иммуноглобулины в эритробластах (%)	г р у п п ы			
		1	3А	3В	4
Желточный мешок	J-цепь	6.37 ± 0.76	4.83 ± 1.21	6.14 ± 1.17	8.11 ± 0.97
	IgG	5.99 ± 0.88	5.02 ± 0.74	6.72 ± 0.82	6.76 ± 0.75
	IgA	2.52 ± 0.49	3.84 ± 0.72	5.18 ± 0.98 ^b	7.44 ± 0.83 ^{bc}
	IgM	0	1.32 ± 0.53 ^b	3.31 ± 0.81 ^b	2.41 ± 0.31 ^b
Капилляры ворсин хориона	J-цепь	18.36 ± 1.26 ^a	14.33±1.36 ^{ab}	22.83±2.57 ^{ac}	13.7±1.48 ^{abd}
	IgG	15.44 ± 1.94 ^a	9.6 ± 1.92 ^{a b}	26.5±9.92 ^{abc}	11.99±1.33 ^{ad}
	IgA	6.99 ± 0.95 ^a	9.67 ± 1.86 ^a	9.0 ± 1.18 ^a	10.83±1.03 ^{ab}
	IgM	0	1.14 ± 0.82	16.44±1.74 ^{abc}	4.68±0.85 ^{abcd}
Сердце и сосуды эмбрионов	J-цепь	25.83 ± 2.35 ^a	18.32±2.03 ^b	49.99±3.47 ^{abc}	35.0±2.43 ^{abcd}
	IgG	29.93 ± 2.68 ^a	16.15±1.42 ^{ab}	35.23±2.42 ^{ac}	21.0 ± 2.17 ^{abd}
	IgA	19.21 ± 2.38 ^a	10.77±1.81 ^b	34.08±2.11 ^{abc}	11.84 ± 1.34 ^{bd}
	IgM	0	3.32 ± 0.92 ^b	33.1± 3.03 ^{abc}	10.25±1.42 ^{abcd}

^a - достоверные (p<0.05-0.001) различия с выше расположенными показателями J-цепи или иммуноглобулинов; ^{bcd} - сравнение последующих групп с предыдущими (p<0.05-0.001).

В желточном мешке, где эритробласты образуются, они содержат минимальное количество иммуноглобулинов. Значительно увеличивается их количество на эритробластах в капиллярах ворсин, куда они поступают через трофобластный барьер. При отсутствии патогенных воздействий (группа 1) транспорт IgG и IgA умеренный, IgM не проходит через барьер. При инфекциях и аллогенном конфликте транспорт IgG и IgA усиливается тем сильнее, чем значительнее патогенность и длительность их воздействия (группы 3В и 4). Восстанавливается транспорт IgM. В группе 3А транспорт иммуноглобулинов несколько меньше, чем в группах 1, 3В и 4.

Транспорт иммуноглобулинов подобного вида происходит только у эмбрионов, но не с эритроцитами у плодов: J-цепи в эритроцитах у них нет. В Таблице 5.2. приводится динамика замены эритробластов эритроцитами. Соответственно уменьшается в крови количество клеток, содержащих J-цепь и иммуноглобулины. На 11 неделе они единичны, а позже исчезают. Более ранняя замена эритробластов эритроцитами при инфекции или аллогенного конфликта не происходит: соотношения их в группах 1, 3А, 3В и 4 однотипны. Но повышение количества эритробластов после 11 недели происходит вследствие компенсаторной пролиферации из-за повышенного разрушения эритроцитов патогенами. Восстанавливается и транспорт иммуноглобулинов на J-цепи.

Другой метод транспорта иммуноглобулинов выполняют моноциты. Они разносят их не только у эмбрионов, но также у плодов. Иммуноглобулины, прошедшие через синтицио- и цитотрофобласт с участием SC и J-цепи, выходят в строму ворсины. Здесь их ждет значительное количество моноклеарных фагоцитов. Они не содержат SC, но имеют рецепторы для IgG: Fc gamma RI, RII и RIII. С их участием фагоциты задерживают иммуноглобулины за Fc-фрагмент, оставляя на своей поверхности Fab-фрагменты свободными, готовыми к захвату антигенов (см. Рис.6.1.).

Таблица 5.2. Динамика замены эритробластов на эритроциты в крови на I и II триместрах развития (в % к общему числу)

Срок развития	Количество эритробластов	P	Количество эритроцитов	P
3.5-7 недели	94.92 ± 1.29	-	5.08 ± 1.31	-
8-9 недели	85.61 ± 4.13	<0.05	14.36 ± 2.74	<0.02
10 неделя	34.43 ± 4.68	<0.001	65.57 ± 6.55	<0.001
11 неделя	5.92 ± 2.14	<0.001	93.68 ± 3.06	<0.001
12-22 недели	0.53 ± 0.12	<0.05	99.41 ± 0.31	>0.1

Сравнение цифр и, соответственно, их достоверность (P) проводится по вертикали: ниже лежащие с соседними выше лежащими. На сроке 3.5-7 недель количество эритроцитов 5.08 ± 1.31% может быть незначительным артефактом: срез препарата мог пройти над ядром эритробласта или ниже его, что создает впечатление безъядерного эритроцита.

Таблица 5.3. Транспорт иммуноглобулинов моноцитами в сердце эмбрионов. Среднее количество иммуноглобулинов (или их компонентов) на поверхности и в цитоплазме моноцитов

	Расположение иммуноглобулинов	Группа 1	Группа 3А	Группа 3В	Группа 4
IgG	На оболочке клетки	7.28 ± 0.95	8.84 ± 1.37	13.18 ± 1.31 ^{a b}	26.88 ± 1.99 ^{abc}
	В цитоплазме	6.47 ± 1.88	7.32 ± 0.94	11.23 ± 0.98 ^{a b}	42.72 ± 2.78 ^{abc}
IgA	На оболочке клетки	6.39 ± 0.45	7.17 ± 1.5	12.38 ± 0.88 ^{a b}	19.25 ± 1.34 ^{abc}
	В цитоплазме	7.18 ± 0.84	7.34 ± 1.15	13.49 ± 1.72 ^{a b}	32.56 ± 2.7 ^{abc}
IgM	На оболочке клетки	0.76 ± 0.17	5.43 ± 0.98 ^a	7.57 ± 0.91 ^{a b}	10.67 ± 0.93 ^{abc}
	В цитоплазме	0.32 ± 0.11	3.92 ± 0.87 ^a	5.41 ± 0.71 ^a	28.78 ± 1.82 ^{abc}

Подсчет количества иммуноглобулинов (или их комплексов) производится на срезе моноцитов в крови полостей сердца эмбрионов при увеличении x1100.

^{abc} - достоверные различия (p<0.05-0.001) с группами 1(^a), 3А(^b) и 3В(^c).

Увеличение количества IgG, IgA и IgM по сравнению с группой 1 связано с развитием инфекций, умеренной иммунологически в группе 3А и более значительной и длительной в группе 3В. Резкое увеличение количества IgG, IgA и IgM в группе 4 и, особенно в цитоплазме моноцитов отражает появление и разрушение аллогенных антител беременной против эмбриона (см. Диаграмму 4.2. и Таблицу 4.9.)

Возможно также участие в эндоцитозе J-цепи, связанной с иммуноглобулинами, способной к захвату различных антигенов. Фагоциты могут содержать иммуноглобулины в своей цитоплазме, где они сохраняются или разрушаются, если окажутся патогенными (например, антитела при аллогенном конфликте (см. Рис.6.1.)). В просвет капилляров моноциты вместе с иммуноглобулинами проходят свободно и циркулируют в крови эмбриона – если и иммуноглобулины, и моноциты не разрушили друг друга при аллогенном конфликте.

5.4. Цели, материалы и методы исследования

В главе 4 рассмотрено состояние плацентарного барьера, его частей принадлежащих беременной и связанных с эмбрионом, в частности – при абортах, вызванных патогенными процессами иммунного характера. Это бактериальная инфекция родовых путей (группы 3А и 3В) и возможный ранний аллогенный конфликт (группа 4). Группа 1 – без воспалительных и иммунных заболеваний, пороков развития или других патологических состояний – является контрольной.

В главе 4 рассматривались две части плацентарного барьера. В части, относящейся к беременной, происходят интенсивные иммунные гуморальные процессы с повышенной выработкой IgG, IgA и особенно IgM. Их интенсивно фагоцитируют инвазивный трофобласт и трофобласт, покрывающий лакуны. Они располагаются в части плацентарного барьера, относящейся к беременной. В части барьера эмбриона иммуноглобулины фагоцитируют два слоя трофобласта и моноциты ворсин, капилляры с эритроцитами. Все компоненты, контактирующие с иммуноглобулинами, разрушаются путем апоптоза.

В главе 5 рассматривается состояние самих эмбрионов при возможно раннем аллогенном конфликте с беременной (группа 4), в сравнении с бактериальными инфекциями (группы 3А и 3В) и в случаях без особых изменений (группа 1). Таким образом, эта глава является продолжением главы 4. Для полноты сравнения просматривается также состояние плодов 9-22 недель развития в группах 1, 3А и 3В. Случаи группы 4 после 8 недели развития не встречаются.

5.4.1. Материалы исследования

В этой главе рассматриваются те же случаи и применялись те же методы исследования, которые использовались в главе 4. Так как часть эмбрионов и плодов в течение абORTов были разрушены полностью, то количество исследуемых уменьшилось: эмбрионов 36 и плодов II триместра 42 (см. Табл.5.4.) Все 78 эмбрионов и плодов разделены на те же группы, как и в главе 4. Группа 1 составила случаи без существенных изменений – 27 эмбрионов и плодов. В группу 2 первоначально вошли случаи с задержкой развития (IUGR) и антифосфолипидным синдромом Hughes – 23 случая эмбрионов и 3 – плодов. Но детальное обследование показало наличие среди них случаев других заболеваний, и они были перенесены в группы 3В и 4. В группе 2 остались два случая эмбриональных (но ткани эмбрионов не сохранились) и три фетальных (с двумя плодами) (см. Таблицу 5.4.). Из-за малого количества материала и отсутствия эмбрионов эта группа была снята с рассмотрения в главе 5. Группа 3А (8 эмбрионов и 20 плодов) включает случаи с воспалением децидуальной ткани и распространением инфекции в околоплодные воды и далее с аспирацией в желудок и прилегающие органы в обход плацентарного барьера. В группе 3В (4 эмбриона и 2 плода) инфекция из децидуальной ткани проникает в кровь лакуны, в ворсины хориона и гематогенным путем распространяется в органы эмбрионов (или плодов). В группу 4 вошли 15 эмбрионов, в них предполагается ранний аллогенный конфликт беременной и эмбриона.

**Таблица 5.4. Количество эмбрионов (3.5 – 8 недель)
и ранних плодов (9 – 22 недели) в исследованных группах**

Периоды	Группы	1	2	3А	3В	4	Всего
Эмбриональный	Исследовано	15	2	13	9	43	82
	В том числе эмбрионов	9	0	8	4	15	36
	%	60.0	0	61.54	44.44	34.88	43.9
Фетальный	Исследовано	18	3	22	4	0	47
	В том числе плодов	18	2	20	2	0	42
	%	100	66.67	90.91	50.0	0	89.36
Всего материалов аборт		33	5	35	13	43	129
Всего эмбрионов и плодов		27	2	28	6	15	78
%		81.82	40.0	80.0	46.15	34.88	60.46

Количество сохранившихся тканей зародышей при абортах зависит от двух факторов. Первый – их возраст и величина: малые тельца эмбрионов (1.5-30 мм) сохраняются в группе 1 в 60%, а плоды – в 100%, и по итоговым данным соответственно 43.9% эмбрионов и 89.36% - плодов. Второй фактор – разрушающее действие патогенов, ставших причиной гибели зародышей в группе 3В (гематогенно распространяющаяся инфекция) и в группе 4 (аллогенный конфликт) сохранились тельца эмбрионов в 44.44% и 34.88% соответственно. В группе 1 (без патогенного воздействия) и в группе 3А (ограниченная инфекция) соответственно 60.0% и 61.54%.

5.4.2. Методы исследования

Использован широкий комплекс патоморфологических, морфометрических и иммуногистохимических методик (см. Раздел 4.2.2.). Морфометрические методы включали подсчет макрофагов, моноцитов и промоноцитов, клеток, содержащих иммуноглобулины IgG, IgA, IgM, биологически активных клеток, содержащих SC, J-цепь, Ki67, интерлейкин 2 (IL2R α), компоненты апоптоза Fas, FasLigand, bcl-2, p53. Подсчет производился на площади 50000 μm^2 препарата при увеличении x400 на 20-50 полях. Количество иммунокомпетентных клеток Т-лимфоцитов CD3, CD4, CD8, В-лимфоцитов CD20, моноцитов CD68 подсчитывались в тех же условиях (см. Таблицы 3.2 и 3.3). Подсчет количества фаголизосом иммуноглобулинов в срезах моноцитов, промоноцитов и инвазивных трофобластов производился на 100-150 клетках (см. Раздел 4.2.3) при увеличении x1500. Общее среднее количество мононуклеарных фагоцитов определялось путем подсчета среднего количества фагоцитов на 50000 μm^2 всех органов эмбрионов, в том числе желтушного мешка и ворсин.

5.5. Группа 1, контрольная.

Нормальное состояние эмбрионов и ранних плодов

В группу 1 вошли 9 эмбрионов 5 - 8 недель и 18 плодов 9-22 недель внутриутробного развития. Стадии развития в этой и во всех последующих группах определялись по морфологии презембрионов, эмбрионов и ранних плодов, разработанной институтом Карнеги (Милованов А.П., Савельев С.В. 2006), а также по числу долек хорды эмбрионов, теменно-копчиковым размерам плода и размером их стопы (Moore K.L. 1988; Drews U. 1995; Sadler T.W. 1995; Robboy S.J. et al., 2002). Стадия развития в группе 1 была нормальной.

К началу эмбрионального периода уже функционируют защитные механизмы зародыша. Один из них – комплекс трофобластов, второй – мононуклеарные фагоциты. В процессе развития эмбриона появляются первые виды лимфоцитов, закладываются первичные структуры будущих иммунных органов и общей иммунной системы. Начинают функционировать биохимические факторы регуляции иммунных процессов – интерлейкины, тимозин, тимулин, группа гормонов дифференцировки Т-лимфоцитов и другие. По мере формирования органов развивается система индивидуальной иммунной защиты жизненно-важных органов (Глава 3).

С наступлением фетального периода увеличиваются виды и количество иммунокомпетентных клеток – различные Т и В-лимфоциты, НК. Продолжается развитие лимфоидных органов общей иммунной системы – тимус, селезенка, лимфоузлы, и органов СИС – миндалины, бляшки Peyer, фолликулы кишечника, аппендикс.

5.5.1. Секреторная иммунная система

На 4-5 день после оплодотворения группа делящихся клеток – морула превращается в бластоцисту (Рис.2.1.). На ее поверхности выделяется слой клеток, крепко соединенных между собой. Это будущий трофобласт. Его функции: выполнить в децидуальной ткани матки ямку для помещения в нее зародыша, обеспечивать для него обмен веществ и защиту. Он способен к фагоцитозу и содержит элементы СИС – рецепторы SC и J-цепь. Они вводят в зародыш иммуноглобулины беременной – антимикробные и прочие, обеспечивая тем самым иммунную защиту зародыша. Рецепторы СИС содержатся также в других образующихся тканях преэмбриона – эктодермальной, энтодермальной и отчасти – мезодермальной. Судьба СИС в различных формирующихся органах не одинакова в зависимости от их будущих функций. В органах, в которых выделение иммуноглобулинов продолжается, рецепторы SC и J-цепь сохраняется, и, следовательно, сохраняется СИС. Там, где эта функция прекращается – утрачиваются вместе SC и J-цепь, и система СИС этого органа (см. Глава 2.4.).

У эмбрионов СИС выполняет следующие функции: получить иммуноглобулины беременной из крови лакун, перенести их через синцитио- и цитотрофобласт в строму ворсин. Затем, они транспортируются в сосуды эмбриона и далее – в ткани (Таблица 5.3.) По мере образования новых органов в соответствии с их функциями СИС, (SC и J-цепь) обеспечивает большое количество не только иммуноглобулинов, но и других необходимых веществ (Главы 1.2.3., 1.2.4., 2.4. и 5.3.).

5.5.2. Моноциты эмбрионов

Мононуклеарные фагоциты широко распространены в органах эмбрионов (Табл.5.5.). Количество их в группе 1 примерно одинаково в различных органах, за исключением печени, которая приняла функцию гемопоэза от желточного мешка. Но в желточном мешке они еще образуются на 5-6 неделях (7.42 ± 1.81 на $50000 \mu m^2$). В среднем во всех органах из числа мононуклеарных фагоцитов встречается моноцитов 96-98%, промоноцитов 2-4%. Предшественники их (миеломоноцитарные клетки – CD34+) в группе 1 в крови не встречаются.

Моноциты – важные защитники зародыша – появляются позднее инвазивного трофобласта и доформирования эмбриона. Но они функционируют в тканях и оболочках эмбрионов, а трофобласт – вне эмбриона, в децидуальной ткани

беременной. Моноциты распознают чужие антигены, фагоцитируют и разрушают их, участвуют в уборке клеток, находящихся в физиологическом и отчасти патологическом апоптозе. Для выполнения многих функций мононуклеарные фагоциты имеют ряд рецепторов и биологических веществ. Это рецепторы для транспорта IgG (Fc gamma RIII–CD16, RII–CD32, RI–CD64), транспортируются также IgA и IgM (Главы 5.3 и 6, таблицы 5.3 и 6.1, Рис. 6.1). У плодов 9-15 недель количество моноцитов в печени поднимается до 25.79 ± 1.95 на $50000 \mu\text{m}^2$.

Таблица 5.5. Количество мононуклеарных фагоцитов на 5-8 неделях в органах эмбрионов (на $50000 \mu\text{m}^2$ слайда)

Органы	г р у п п ы			
	1	3А	3В	4
Мозговая губка	0.96 ± 0.11	2.42 ± 0.51^a	0.87 ± 0.18^b	0.61 ± 0.25^b
Сердце	0.956 ± 0.21	2.2 ± 0.43^a	0.98 ± 0.28^b	0.88 ± 0.31^b
Печень	18.18 ± 1.85	17.41 ± 1.88	12.38 ± 1.34^{ab}	9.38 ± 1.39^{ab}
Легкие	1.39 ± 0.53	2.87 ± 0.63	1.88 ± 0.48	0.81 ± 0.35^b
Мезенхима	1.84 ± 0.61	6.21 ± 1.09^a	3.06 ± 0.91^{ab}	2.33 ± 0.68^b
Гонадные валики	0.8 ± 0.17	1.61 ± 0.48	0.09 ± 0.08^{ab}	1.18 ± 0.38^c

^{a b c} - достоверные отличия ($p < 0.05-0.001$) последующих групп от групп 1, 3А, 3В. В группе 1 распределение фагоцитов в разных органах примерно одинаково. Большое количество фагоцитов в печени связано с тем, что с пятой недели гемопоэз и образование фагоцитов перемещается из желточного мешка в печень. В группе 3А увеличение количества фагоцитов указывает на усиление реакций, в группах 3В и 4 отсутствие его – признак ослабления реакций.

Таблица 5.6. Общее среднее количество мононуклеарных фагоцитов эмбрионов и изменение соотношения моноцитов и промоноцитов

	г р у п п ы			
	1	3А	3В	4
Количество мононуклеарных фагоцитов (среднее на $50000 \mu\text{m}^2$)	4.28 ± 0.61	6.88 ± 0.81^a	2.34 ± 0.55^{ab}	3.94 ± 0.46^{bc}
Из них: моноциты (%)	96.89 ± 6.3	83.57 ± 5.73	68.09 ± 4.15^{ab}	48.73 ± 2.78^{abc}
промоноциты (%)	3.11 ± 0.34	16.43 ± 1.85^a	31.91 ± 2.42^{ab}	51.27 ± 3.51^{abc}

^{abc} - достоверность отличий ($p < 0.01 - 0.001$) последующих групп от групп 1, 3А, 3В. Таблица отражает степень разрушения мононуклеарных фагоцитов и компенсаторную пролиферацию их промоноцитами в каждой исследуемой группе. Проявления компенсации в группе 3А и декомпенсации в группах 3В и 4.

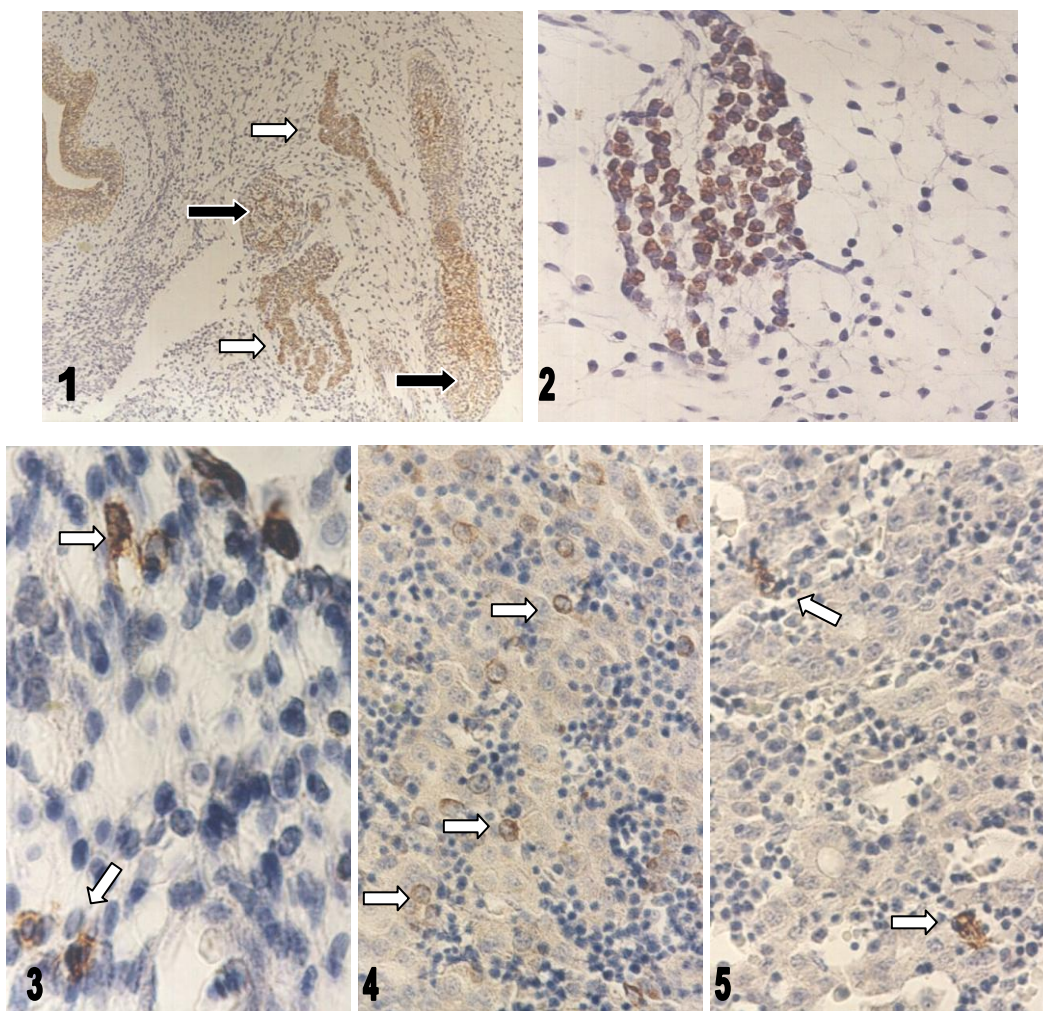


Рис.5.2. Состояние лимфоцитов у эмбрионов и закладка лимфоидных органов при нормальном развитии. **1** – две части будущего тимуса (темные стрелки), еще не содержащие лимфоидных клеток. Рядом две части щитовидной железы (светлые стрелки), в ней SC(+) больше, чем в тимусе. 5 недель. x100. **2** – скопление CD3(+) пролимфобласта в средостении около аорты – будущие лимфоузлы. 5 недель. x200. **3** – закладка селезенки между печенью и поджелудочной железой, несколько CD20(+) В-лимфоузлов. 8 недель. x1000. **4** – печень. Множественные гемопоэтические клетки, в том числе CD3(+) лимфоциты и CD3(±) пролимфоциты. **5** – то же: в печени немного CD20(+) В-лимфоцитов. Оба 8 недель. x400.

5.5.3. Общая иммунная система

На 4 неделе в желточном мешке появляются лимфоидные клетки CD3(+) Т-пролимфоциты в количестве $2.5 \pm 0.4 / 50000 \text{ } \mu\text{m}^2$, и CD20(+) В-пролимфоциты – $0.18 \pm 0.05 / 50000 \text{ } \mu\text{m}^2$. Основным гематогенным органом с 5-6 недель становится печень. В ней образуются иммунокомпетентные клетки: Т-лимфоциты CD3(+) в количестве $0.85 \pm 0.54 / 50000 \text{ } \mu\text{m}^2$, В-лимфоциты CD20(+) $0.25 \pm 0.21 / 50000 \text{ } \mu\text{m}^2$, иммуноглобулины они еще не содержат. Другие лимфоциты (Т-хелперы, Т-супрессоры) еще не образуются. Имеются моноциты и эритробласты. Площадь синтеза всех этих клеток в печени гораздо больше, чем площадь желточного мешка. Поэтому количество CD3(+) и CD20(+), отмеченное в печени на $50000 \text{ } \mu\text{m}^2$, не следует рассматривать как меньшее, чем в желточном мешке. К тому же, на 7-8 неделях количество CD3(+) возрастает до $3.58 \pm 0.94 / 50000 \text{ } \mu\text{m}^2$, CD4(+) 1.73 ± 0.55 , CD8(+) 0.21 ± 0.03 , а CD20(+) В-лимфоцитов 0.63 ± 0.22 , изредка они содержат немного гранул IgM и IgA. IgG не определяется.

В начале 5 недели закладывается строма будущих основных органов иммунной системы – тимуса из тканей третьего и четвертого глотных карманов, и селезенки – несколько ниже желудка. Переселяться в тимус иммунокомпетентные клетки начинают с 7.5-8 недель, но гормоны – тимозин, тималин, тимопозитин и другие (Хлыстова З.С., 2006), регулирующие дифференцировку клеток, появляются уже с 6 недели. В тимусе и селезенке формируются неспецифические структуры. Первые зачатки лимфоузлов появляются на 5 неделе ниже дуги аорты (Рис.5.3.2-6), около метанефрос появляются небольшие группы CD3(+) лимфоцитов. Затем лимфоузлы образуются главным образом на перестройках лимфатических сосудов – на шее, в подмышечных областях, в паху, средостении и брюшной полости.

В селезенке к 14-15 неделям формируются фолликулы. В них имеются лимфоциты CD3(+) – 10.7 ± 1.2 , CD4(+) – 3.9 ± 0.45 , CD8(+) – 5.8 ± 0.6 , CD20(+) – $33.7 \pm 4.41 / 50000 \text{ } \mu\text{m}^2$. Часть В-лимфоцитов содержат иммуноглобулины: IgG – 0.88 ± 0.11 , IgA – 0.81 ± 0.03 и IgM – $0.71 \pm 0.18 / 50000 \text{ } \mu\text{m}^2$. К 20-22 неделям развития возрастает как число лимфоцитов: CD3(+) – 134.93 ± 32.41 и CD20(+) $119.0 \pm 16.34 / 50000 \text{ } \mu\text{m}^2$, так и содержание в них иммуноглобулинов: IgG – 6.11 ± 1.03 , IgA – 5.02 ± 0.93 , IgM – $3.37 \pm 0.35 / 50000 \text{ } \mu\text{m}^2$.

Интерлейкины (IL), их рецепторы и в том числе IL2R α играют важную роль в регуляции иммунных и воспалительных процессов у взрослых. У эмбрионов и плодов IL2 выявлены на 7-19 неделях развития (Compagnoli C. et al., 1967). P.Nan и G.Hodge (1999) трактуют появление IL2R α в крови пупочного канатика, как противовоспалительный фактор. У плодов интерлейкины активируют образование Т хелперов, цитотоксических лимфоцитов, NK, В-лимфоцитов и других видов клеток и участвуют таким образом в подавлении инфекции (Saito S., 2000; Kwak D.J. et al., 2000; Hebra A. et al., 2001). По нашим данным у эмбрионов 3.5-8 недель IL2R α содержится в крупных промоноцитах желточного мешка ($2.47 \pm 0.21 / 50000 \text{ } \mu\text{m}^2$) и печени ($1.35 \pm 0.12 / 50000 \text{ } \mu\text{m}^2$), а также в эпителии желудка, кишки, трахеи и бронхов, в клетках гонадных валиков, канальцев мезонефрос и метанефрос, в миокарде, эпителии, закладке панкреас, в эндотелии сосудов, мышц. Такое широкое распространение IL2R α CD25(+) в случаях без воспалительных и патологических иммунных процессов у эмбрионов и ранних плодов позволяет полагать, что интерлейкины 2 активно участвуют в процессах формирования органов. В селезенке и лимфоузлах плодов II триместра интерлейкин IL2R α определяется в количестве $0.43 \pm 0.06 / 50000 \text{ } \mu\text{m}^2$.

5.5.4 Процесс пролиферации в формировании органов эмбрионов

Основные процессы эмбрионального периода – формирование и развитие органов со значительным размножением клеток и изменением их функций. Один из таких органов – печень. На третьей неделе развития в срединной части первичной кишки разрастается участок эпителия, превращающийся в трубочку. Начальная часть ее затем преобразуется в желчный пузырь и крупные желчные протоки, а в конечной части образуются тяжи эпителия – будущие гепатоциты. Сюда же врастают кровеносные капилляры. Они связаны с сосудами, проходящими из плаценты к сердцу эмбриона. В результате, в течение всего внутриутробного развития к образующейся печени проходит кровь, богатая всем необходимым для успешного развития. С 4 недели и далее печень быстро растет, становясь самым большим органом тела. В хороших условиях накапливаются из желточного мешка эритробласты, моноциты и их предшественники, а также лимфоидные клетки. Количество пролиферирующих Ki67(+) клеток в среднем $9.02 \pm 1.03 / 50000 \text{ мкм}^2$, доходя вскоре до $32.87 \pm 4.19 / 50000 \text{ мкм}^2$.

Интенсивная пролиферация отмечается также в гонадных валиках. Они образуются на 4 неделе в виде складки мезодермы около мезонефрос. Клетки мезодермы внедряются под нее и активно размножаются, образуя большие скопления клеток обслуживания гонад. Количество этих пролиферирующих клеток Ki67(+) клеток доходит при этом до 70%. Первичные половые клетки образуются в желточном мешке на 14-15 день развития. Они активно размножаются, и на 5 неделе начинают переселяться в гонадные валики. Общее количество Ki67(+) клеток – гонад и обслуживающих их клеток составляет в это время $7.33 \pm 0.93 / 50000 \text{ мкм}^2$.

В нервной трубке в процессе ее развития положение пролиферирующих клеток меняется. Вначале они находятся на всем протяжении трубки, а затем сосредотачиваются в базальном и поверхностном слоях. В сердце, в мезенхиме его и в миокарде количество пролиферирующих клеток невелико.

5.5.5. Апоптоз

Физиологический апоптоз в группе 1 встречается изредка в виде разрушения одиночных или 2-3 клеток. В нем участвуют Fas, FasLigand, p53 и другие белки, запускающие апоптоз, а bcl2 предотвращает развитие апоптоза. Появление в клетках упомянутых протеинов является признаком предстоящего апоптоза, а присутствие bcl2 – его задержки. В гонадных трубках и в моноцитах апоптоз проходит с участием p53. В эмбрионах группы 1 обнаружены Fas в гепатоцитах в количестве $0.4 \pm 0.01 / 50000 \text{ мкм}^2$ в 15.4% случаев. FasLigand не выявлен во всех случаях. bcl2 отмечены в фолликулярных клетках гонадных валиков $1.1 \pm 0.35 / 50000 \text{ мкм}^2$ и в нейробластах $2.14 \pm 0.82 / 50000 \text{ мкм}^2$ в 30.77% случаев, p53 положителен в гонадных валиках в $1.7 \pm 0.5 / 50000 \text{ мкм}^2$. В сердце, легких, почках и других органах апоптоз встречается очень редко в единичных клетках. Реакция TUNEL отрицательна. Это состояние органов соответствует физиологическому апоптозу.

То же самое отмечается в лимфоидных органах плодов II триместра: в тимусе, селезенке и лимфоузлах Fas, FasLigand, p53 не обнаружены, реакция TUNEL отрицательна. Иногда встречаются небольшие группы bcl2, главным образом в строме.

5.5.6. Заключение по группе 1

Одной из задач 5 главы является изучение патологических изменений при бактериальных инфекциях и аллогенных конфликтах и возможности реакций защиты у эмбрионов человека в начале их развития. Чтобы разбирать, какие изменения возникают при действии патогенов, нужно знать нормальное состояние возможных средств защиты. Это главная задача группы 1.

Покровная ткань зародыша – трофобласт содержит элементы СИС: секреторный компонент (SC) и J-цепь, а также иммуноглобулины IgG и IgA, поступающие от беременной. Трофобласт находится в тесном контакте с тканями беременной. Он обладает, кроме многих других, способностью фагоцитоза и выполняет таким образом функции передовых защитников. По мере развития эмбриона широко формируется СИС во многих органах и тканях, а затем, с учетом меняющихся их функций, она будет функционировать в течение всей жизни человека. В эмбриональном периоде на основании СИС выделяется система индивидуальной иммунной защиты клеток жизненно важных органов эмбрионов и плодов (глава 3).

Мононуклеарные фагоциты тоже выполняют функции защиты и транспорта еще до начала эмбрионального периода. Кроме фагоцитоза мертвых клеток они разрушают патогены, в том числе аллогенные антитела и бактерии. Они также транспортируют иммуноглобулины, для чего имеют рецепторы Fc gamma RI α , RII и RIII (глава 5.3 и Рис.6.1.).

Иммунокомпетентные клетки общей иммунной системы про-Т-лимфоциты и про-В-лимфоциты появляются около 4 недели развития. Еще до образования лимфоидных органов они проявляют некоторую активность и ускоряют свое развитие (Таблица 3.4.). Они содержат интерлейкины, в частности, рецептор IL2R α . Лимфоцитов еще очень мало и IL2R α располагается главным образом в большом количестве различных паренхиматозных клеток. Это позволяет полагать, что он участвует в создании ими новых органов.

Образование органов – главная задача эмбрионального периода. В этом процессе ведущими являются две функции. Одна – ликвидация ненужных органов или тканей, что производится путем физиологического апоптоза. Его особенность – быстрые процессы разрушения и уборки погибших частей. Вторая главная функция – также быстрое создание других клеток новообразуемого органа. В этих процессах пролиферация имеет важнейшее значение, когда Ki67 положительная реакция охватывает 70 и более процентов клеток.

5.6. Группа 3А. Эмбрионы и ранние плоды при острой восходящей инфекции родовых путей с поражением хориона и амниона

В группу 3А вошли 8 эмбрионов 5-8 недель развития и 20 плодов 9-22 недель (Таблица 5.4.) с признаками острой бактериальной инфекции родовых путей. Размеры и развитие эмбрионов и плодов соответствуют норме.

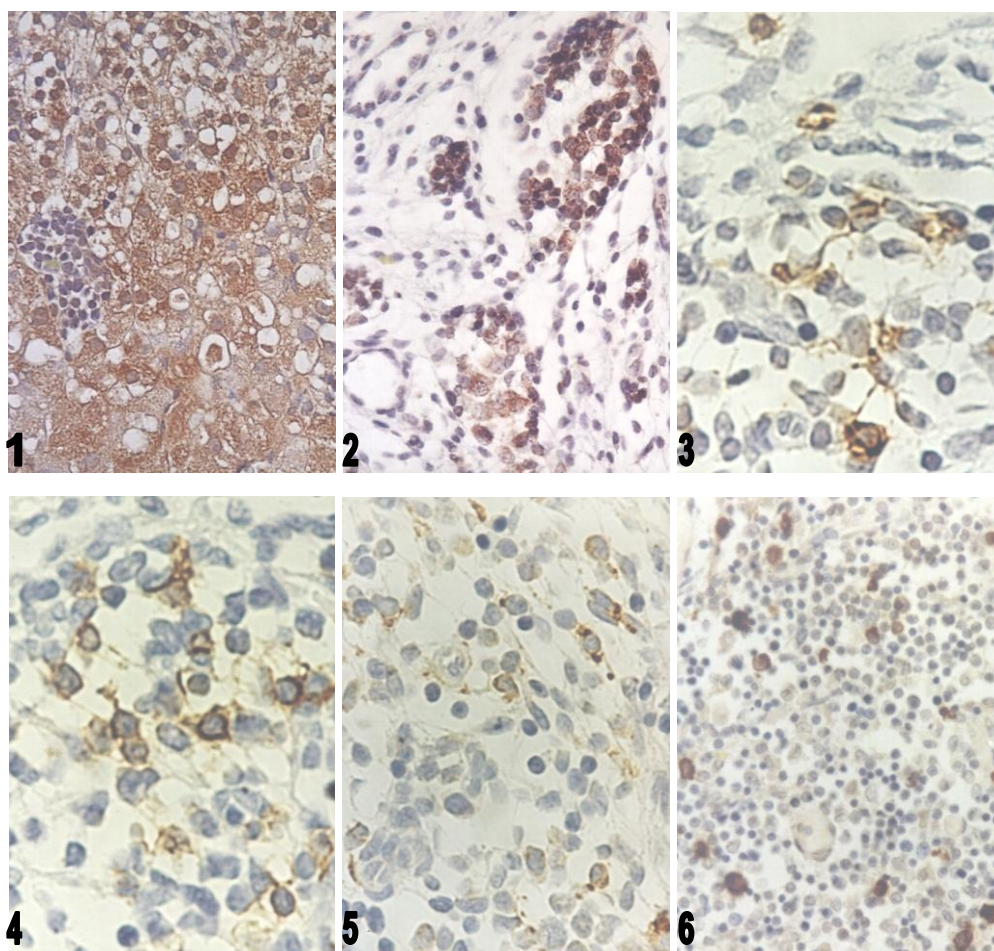


Рис.5.3. Группа 3А. Состояние лимфоцитов в периоде 7 – 12 недель. **1** – надпочечник. Группа лимфоцитов: J-цепь в дефинитивной и ранней фетальной зонах и также наличие IgG(+), IgA(+). при инфекции показывают действие в надпочечниках индивидуальной иммунной защиты (глава 3.3.5). **2** – комплекс лимфоцитов: CD3(+) в средостении. **3** – там же лимфоциты CD8(+). **4** – лимфоциты CD20(+). **5** - в лимфоцитах IgA(+). **6** – в лимфоцитах IgM, IgG(-). Наличие в лимфоцитах CD20 IgM(+) и IgA(+) позволяет полагать возможность синтеза иммуноглобулинов при инфекции на 12 неделях развития. Увеличение 1, 2, 6 x400; 3, 4, 5 x1000.

5.6.1. Патологические изменения эмбрионов

Восходящее воспаление родовых путей у беременной выражается в эндометрите и децидуите в участках некроза, окруженных иногда значительными зонами лейкоцитов и макрофагов. Имеется микрофлора, главным образом, кокки. Местами участки воспаления могут распространяться на оболочки зародыша – развивается хориоамнионит. На их поверхности возможно небольшое количество лейкоцитов, но вглубь некроза оболочек они не проникают. Микрофлора из участка некроза может пройти в околоплодные воды амниона. При аспирации и заглатывании вод микрофлора попадает в стомодеум, глотку, желудок, кишку, трахею. Эпителий слизистой этих органов местами некротизируется и отслаивается. В них, а также в бронхах, ацинусах и протоках поджелудочной железы, в печени SC и J-цепь окрашиваются слабо, а местами они, а также иммуноглобулины, исчезают. Эти изменения свидетельствуют об угнетении СИС в этих зонах как результат действия патогенов. В органах и тканях, не связанных с пищеварительными и дыхательными органами – в коже, мезотелии, гонадных валиках, в эпикарде, эпителии канальцев пронефрос, мезонефрос, метанефрос, протоков Muller и Wolff – SC, J-цепь и иммуноглобулины сохраняются. Также J-цепь и иммуноглобулины содержатся в миокарде, островках поджелудочной железы и некоторых эндокринных железах. SC в них отсутствует (см. главу 3.3). Транспорт IgG и IgA на эритроблестах к органам эмбрионов уменьшается, но транспорт их на моноцитах несколько возрастает, а IgM резко увеличивается (Таблицы 5.1., 5.3.). Возрастает количество мононуклеарных фагоцитов за счет значительного увеличения числа промоноцитов (Таблицы 4.4. и 5.5.).

Начало развития общей иммунной системы у эмбрионов проявляется незначительным количеством пролимфоцитов CD3 и CD20 в желточном мешке, а затем в печени. Поодиночке они появляются в некоторых других органах (Таблицы 3.3., 3.4.). Патогены с умеренным воздействием вызывают активацию иммунного ответа. В случаях группы 3А в эндокринных железах эмбрионов инфекция вызывает некоторое увеличение количества лимфоцитов – общую реакцию CD3(+), цитотоксических CD8(+) и В-лимфоцитов CD20(+), появляются хелперы CD4(+) (Таблицы 3.3. и 3.4.). В печени количество CD20(+) лимфоцитов возрастает на 7-8 неделях до $7.12 \pm 1.24 / 50000 \mu\text{m}^2$, в цитоплазме некоторых содержатся гранулы, количество лимфоцитов, содержащих IgG 0.98 ± 0.44 , IgA 2.02 ± 0.85 и IgM $2.27 \pm 0.95 / 50000 \mu\text{m}^2$. Растет также число мононуклеарных фагоцитов (Таблица 5.5.), особенно за счет промоноцитов (Таблица 5.6.) Все это является следствием усиленного ответа на патогены.

Пролиферативная реакция возрастает также в ответ на инфекцию. Увеличивается количество Ki67(+) клеток в нервной трубке, печени, гонадных валиках и других органах, достигающее до $45 - 135 / 50000 \mu\text{m}^2$. Очень наглядно состояние Ki67(+) клеток в цитотрофобласте и пролиферирующем трофобласте, находящихся в близком контакте с патогенами – они изменяются мало. Но инвазивный трофобласт, непосредственно контактирующий с микрофлорой, сокращается в 5.8 раз (Таблица 4.4.).

Интерлейкин IL2R α (CD25) имеется в эмбрионах в единичных лимфоцитах желточного мешка, а затем в печени, где их количество резко возрастает ($3.75 \pm 0.95 / 50000 \mu\text{m}^2$). Он широко распространен в клетках нервной трубки, миокарда, печени, надпочечников, в эпителии желудка и кишки, мезонефрос и других органов и содержится также в органах плодов. Это показывает значительное участие IL2R α в

процессах, происходящих на ранних этапах развития эмбриона и способностях их к сохранению функций.

Клетки в состоянии апоптоза в органах эмбрионов и плодов II триместра группы 3А встречаются редко. Их количество в различных органах составляет не более $2.01 \pm 0.67 / 50000 \text{ мкм}^2$, (в группе 1 – 1.52 ± 0.04 , $p > 0.1$). Несколько чаще встречаются р53(+) клетки в гонадных валиках. Иногда в различных органах отмечаются группы клеток *bcl-2*.

5.6.2. Патологические изменения плодов

У плодов 9-16 недель группы 3А патологические процессы в децидуальной ткани более значительны, чем у эмбрионов. Имеются различные лимфоциты и в том числе CD20(+) В-лимфоциты, синтезирующие IgM и IgA (см.Рис.5.3).

В эпителии пищеварительных и дыхательных органов плодов ослабляются или исчезают SC, J-цепь и иммуноглобулины, местами слущивается эпителий слизистых (некроз). У плода 15 недель в мелких бронхах содержалось немного нейтрофилов, что можно трактовать как пневмонию. В этом случае отличалось также уменьшение числа фолликулов и числа лимфоидных клеток в них. Это является признаком субкомпенсации иммунной системы. В остальных случаях имеются признаки реакции иммунной системы: в селезенке увеличены фолликулы, количество иммунокомпетентных клеток в них составляет $38.88 \pm 4.61 / 50000 \text{ мкм}^2$; Т-лимфоцитов (CD3+) – 16.1 ± 1.21 ; CD4+ хелперы 5.3 ± 0.72 ; CD8 супрессоры 5.42 ± 0.43 ; В-лимфоцитов 25.18 ± 1.9 . В некоторых В-лимфоцитах в срезе содержатся гранулы IgG 0.88 ± 0.11 , IgA 0.81 ± 0.03 и IgM 0.71 ± 0.18 . Мононуклеарные фагоциты $15.11 \pm 1.41 / 50000 \text{ мкм}^2$.

У плодов 17 – 22 недель состояние более разнообразное. Мелкоочаговая сливающаяся пневмония имела во всех случаях. В различных органах и тканях имеются мелкие кровоизлияния, в эпителии желудка и кишечника небольшие участки разрушения. В половине случаев в селезенке и лимфоузлах резко уменьшается количество всех иммунокомпетентных клеток. В селезенке уменьшается количество и размеры фолликулов. Число Т-лимфоцитов: CD3 – 8.1 ± 0.91 ; CD4 – 1.1 ± 0.6 ; CD8 – 2.7 ± 0.11 ; CD20- 9.3 ± 1.9 ; моноцитов – $5.9 \pm 1.6 / 50000 \text{ мкм}^2$. Эти показатели меньше чем в группе 1 ($p < 0.01-0.001$). Изменения лимфоузлов аналогичны. Эта декомпенсация лимфоидной системы является признаком сепсиса.

Состояние лимфоидных органов в остальных случаях близко к отмеченному у плодов 9 – 16 недель. Количество пролиферирующих Ki67 клеток в фолликулах селезенки $3.38 \pm 0.19 / 50000 \text{ мкм}^2$, клеток с интерлейкином IL2R α (CD25) $5.72 \pm 1.0 / 50000 \text{ мкм}^2$. В различных органах изредка встречаются одиночные клетки в состоянии апоптоза.

5.6.3. Заключение по группе 3А

Рассматриваемое в группе 3А заболевание половых путей женщины вызвано микрофлорой с умеренной патогенностью. Морфологические изменения выражаются лишь в небольших участках некроза с узким окружением из лейкоцитов в ее децидуальной ткани. Она обычно мало замечает его, но для эмбрионов или плодов II триместра эта инфекция завершается гибелью. Первоначально для них заболевание складывается без существенных осложнений: микрофлора не проходит через плацентарный барьер и сосуды ворсин, снабжение эмбрионов сохраняется. Бактерии проходят через амнион в желудок, кишку, трахею,

которые имеют СИС с антителами беременной. Это существенно ослабляет микрофлору, она не провоцирует развитие апоптоза. Но у некоторых эмбрионов в СИС истощаются антитела, микрофлора усиливается. Эмбрион реагирует: несколько усиливается пролиферация промоноцитов и некоторых других клеток печени и других органов. Но этого недостаточно, и на 5-6 неделях погибают 17.86% эмбрионов. Их исследование показывает скудные изменения: распад небольших участков эпителия желудка и кишечника, мелкие кровоизлияния и умеренная пролиферация гематогенных клеток печени, CD20(+) В-лимфоциты единичны, без иммуноглобулинов.

На 7-8 неделях происходит значительное усиление систем защиты. Вдвое увеличивается количество фагоцитов за счет пролиферации промоноцитов. Количество CD20(+) В-лимфоцитов резко возрастает: в печени в группе 1 на 7-8 неделях их $3.58 \pm 0.96 / 50000 \text{ мкм}^2$, а в группе 3А – 7.12 ± 1.24 ($p < 0.05$). В эти же сроки в группе 1 встречаются CD20(+) В-лимфоциты, одиночные из них содержат IgM и IgA, IgG отсутствует. А в группе 3А содержатся лимфоциты с IgM $2.27 \pm 0.95 / 50000 \text{ мкм}^2$, IgA 2.02 ± 0.85 и IgG 0.98 ± 0.44 , в общем 5.27 ± 1.35 лимфоцитов, синтезирующих иммуноглобулины, на 50000 мкм^2 слайда ($p < 0.001$) (Рис.5.3). Возрастает также пролиферативная активность (Ki67+) различных клеток в зоне плацентарного барьера и в органах эмбрионов. Интерлейкин 2 (IL2R α) в печени группы 1 содержится в 1.35 ± 0.12 , а в группе 3А – в 3.75 ± 0.95 клеток / 50000 мкм^2 ($p < 0.02$). Но и достигнутые сдвиги недостаточны: погибли 10.71% эмбрионов. Непосредственные причины смерти: дистрофия миокарда, спазм сосудов. Апоптоз единичный, изредка сосуды ворсин без изменений.

Изменения нарастают к 15 неделям. Появляются нейтрофилы, образуя картину малого воспаления, чаще всего в легких, куда попадает микрофлора с амниотической водой. На 16-22 неделях развития воспалительный процесс почти во всех случаях более продолжителен и приближается к полной картине воспаления. Ускоряется процесс развития, созревания иммунной системы и восстановления СИС. Однако растет и влияние патогенов. И начинается всестороннее снижение количества и функций многих биологических реакций, иммунных систем: уменьшается число и размеры фолликулов, количество всех видов лимфоцитов в селезенке и лимфоузлах. Это декомпенсация иммунной системы. К ней присоединяется пневмония (у всех плодов 17-22 недель) – а это уже сепсис.

5.7. Группа 3В. Восходящая инфекция родовых путей с гематогенным распространением

В группу 3В входят 13 случаев. Аборт на 5-8 неделях был у девяти, из них в четырех случаях сохранились ткани эмбрионов. При аборте на 10-16 неделях из 4 случаев два плода с 10 и 11 неделями развития сохранили часть тканей. Размеры и развитие органов соответствуют норме.

5.7.1. Патологические изменения эмбрионов и плодов

Особенностью инфекции группы 3В является ее распространение из децидуальной ткани беременной в ткани эмбриона (или плода) через плацентарный барьер в ворсины и далее гематогенным путем в ткани и органы (Рис.4.9.). В зоне плацентарного барьера возникают тяжелые повреждения тканей: ворсин с функционирующими капиллярами сохранилось всего $18.5 \pm 6.81\%$. В остальных более 80% ворсин имеются значительные участки некроза, петрификации, фиброза

– следы участков бывшего некроза, тромбоз капилляров, местами группы апоптоза эндотелия капилляров. И, как следствие всех этих процессов – аваскулярные ворсины ($18.9 \pm 1.28\%$ ворсин, глава 4.6). Весь комплекс этих повреждений начат микрофлорой. Они развиваются 1-2 недели.

У эмбрионов 5-8 недель и плодов 10-11 недель в различных органах имеются участки некрозов: отечная строма, тени ядер клеток бесструктурные, слабо окрашиваются. В миокарде резкий отек, в большинстве миоцитов ядра бледные, но истерченность миоцитов сохраняется (колликвационный некроз). Часть миоцитов превращается в темные колючки (коагуляционный некроз). Это же отмечено в некоторых клетках печени и в других органах. В желудке и кишке поверхностная половина эпителия отслоена и распадается. Также отделяется эпителий трахеи и бронхов, местами эпителий кожи подвергается такому некрозу. На эпителии органов, в которых обычно содержится СИС, часто видны участки SC и J-цепи, но иммуноглобулины IgG, IgA и IgM слабо окрашены или отсутствуют. Такая недостаточность или отсутствие, в сочетании с отеком и некрозом этих органов, является признаком резкого снижения прохода факторов любого вида через плацентарный барьер и далее к тканям эмбрионов и плодов. В мезонефрос и метанефрос - колликвационный некроз: ядра клеток клубочков и канальцев бледные – вид пустого пузырька, строма отечная. В надпочечниках такие же изменения. В нервной трубке, спинальных ганглиях и в строме имеются небольшие кровоизлияния.

У эмбрионов и плодов в полостях сердца и в сосудах появляются стволовые клетки CD34(+), предшественники почти всех видов гемопоэтических клеток, и в том числе эритробластов и миеломоноцитарных клеток. Их появление – признак глубокой недостаточности этих видов клеток. В группе 1 они не встречаются, в группе 3А – изредка единичные, а в группе 3В обнаруживаются по 1-3 CD34(+) клеток на $50000 \mu\text{m}^2$ площади препарата.

Из 6 сохранившихся телец эмбрионов и плодов в трех случаях имелся частый апоптоз в нервной трубке (22.7% нейробластов), в зачатке глаза, мезенхиме (26.2% клеток), менее в печени, желудке. Множественный апоптоз разрушал эритробласты в аорте и крупных сосудах и моноциты в тканях. Там же находились Gram+ кокки. Небольшое количество клеток, содержащих Fas, FasLigand, имелись в органах, где отмечен апоптоз. bcl2 виден местами в клетках гонадных валиков. Пролиферация паренхиматозных клеток снижена, при тяжелых повреждениях подсчет ее затруднен.

Количество моноцитов в органах группы 3В в основном близка с группой 1, но в печени, где они главным образом размножаются, их меньше (Таблица 5.5.). В группе 3А, где ситуация менее тяжелая, мононуклеарных клеток больше, чем в группе 3В. Это означает недостаточность фагоцитов группы 3В. У моноцитов содержатся рецепторы Fc gamma RIII (CD16) и Fc gamma RII (CD32), а также Fc gamma RI (CD64). Они выполняют ряд важных функций: фагоцитоз, сорбцию генов и иммунных комплексов антигенов, участвуют в клеточной цитотоксичности и других иммунных реакциях (Рис.6.1.). Промоноциты не содержат этих рецепторов. Они фагоцитируют некоторые вещества, например IgG. В группе 1 количество моноцитов велико, $68.78 \pm 2.5\%$ их содержат CD16, а $79.0 \pm 3.95\%$ - CD32. В группе 3В моноцитов меньше, соответственно CD16 - $34.52 \pm 2.79\%$ и CD32 – $24.36 \pm 1.95\%$. Поэтому, например, промоноциты мало фагоцитируют гемосидерин из разрушенных эритробластов.

IL2R α содержится в печени в единичных лимфоцитах и в мононуклеарных фагоцитах в количестве $6.75 \pm 1.22 / 50000 \mu\text{m}^2$, что значительно больше, чем в

группах 1 и 3А. IL2R α также широко представлен в тканях и органах, упомянутых в группах 1 и 3А.

5.7.2. Заключение по группе 3В

В случаях группы 3В распространенная гематогенная инфекция вызывает тяжелое заболевание, завершившееся гибелью и разрушением эмбрионов и плодов. Это обусловлено тремя факторами. Первый: быстрое гематогенное распространение патогена – микрофлоры. Второй: массивное повреждение плацентарного барьера (Таблица 4.2.), которое вызывает тяжелое нарушение двухстороннего обмена между беременной и зародышем. И, возможно, третий фактор – высокая токсичность микрофлоры.

Действие многих патологических процессов приводит одновременно к нескольким результатам. В одних и тех же тканях и клетках образуется три вида некроза: колликативный (отечный), коагуляционный (при котором белки клеток свертываются и превращаются в плотные комочки), и патологический апоптоз. Множественное разрушение ворсин хориона (более 80% нефункционирующие) вызывает, кроме других, нарушение обмена воды. Она продолжает поступать через плацентарный барьер, образуются крупные отечные ворсины, избыток воды в зародыше вызывает отек тканей и клеток с исходом в колликативный некроз. Нарушение обмена белков в клетках завершается их коагуляционным некрозом. Действие токсинов микрофлоры вызывает апоптоз.

В столь тяжелом заболевании действуют защитные процессы. В децидуальной ткани наряду с нейтрофилами, макрофагами и различными иммунокомпетентными клетками беременной действует инвазивный трофобласт эмбриона и раннего плода. При этом пролиферирующий трофобласт ворсинок крупными группами передвигается к децидуальной ткани и внедряется в нее. Тяжи его (это уже инвазивный трофобласт) входят в участки некроза и фагоцитируют его частицы, но и гибнут. В результате количество групп пролиферирующего трофобласта на ворсинках уменьшается в 6.4 раза по сравнению с группой 1, а количество клеток инвазивного трофобласта уменьшается в 3.8 - 8.4 раза. Но количество клеток Ki67(+) в группах пролиферирующего трофобласта даже несколько возрастает (Таблица 4.4.) Моноциты фагоцитируют частицы некроза ворсин, возможно – микрофлору, и тоже гибнут. Однако, число мононуклеарных фагоцитов не уменьшается за счет деления моноцитов здесь же в ворсинах (5.05 ± 0.95 их Ki67+), а также образования промоноцитов в печени. Их количество в ворсинах возрастает: вместо $0.16 \pm 0.01 / 50000 \mu\text{m}^2$ в группе 1 до $2.15 \pm 0.09 / 50000 \mu\text{m}^2$ в группе 3В (Таблица 4.5.). По фагоцитозу некротических тканей промоноциты не уступают моноцитам. Очевидно, в этом есть результат высокой активности интерлейкина 2 (IL2R α). Приходится удивляться – как при тяжелой инфекции в случаях группы 3В у эмбрионов и ранних плодов действуют механизмы иммунной защиты, которые поддерживают их жизнедеятельность в течение недель.

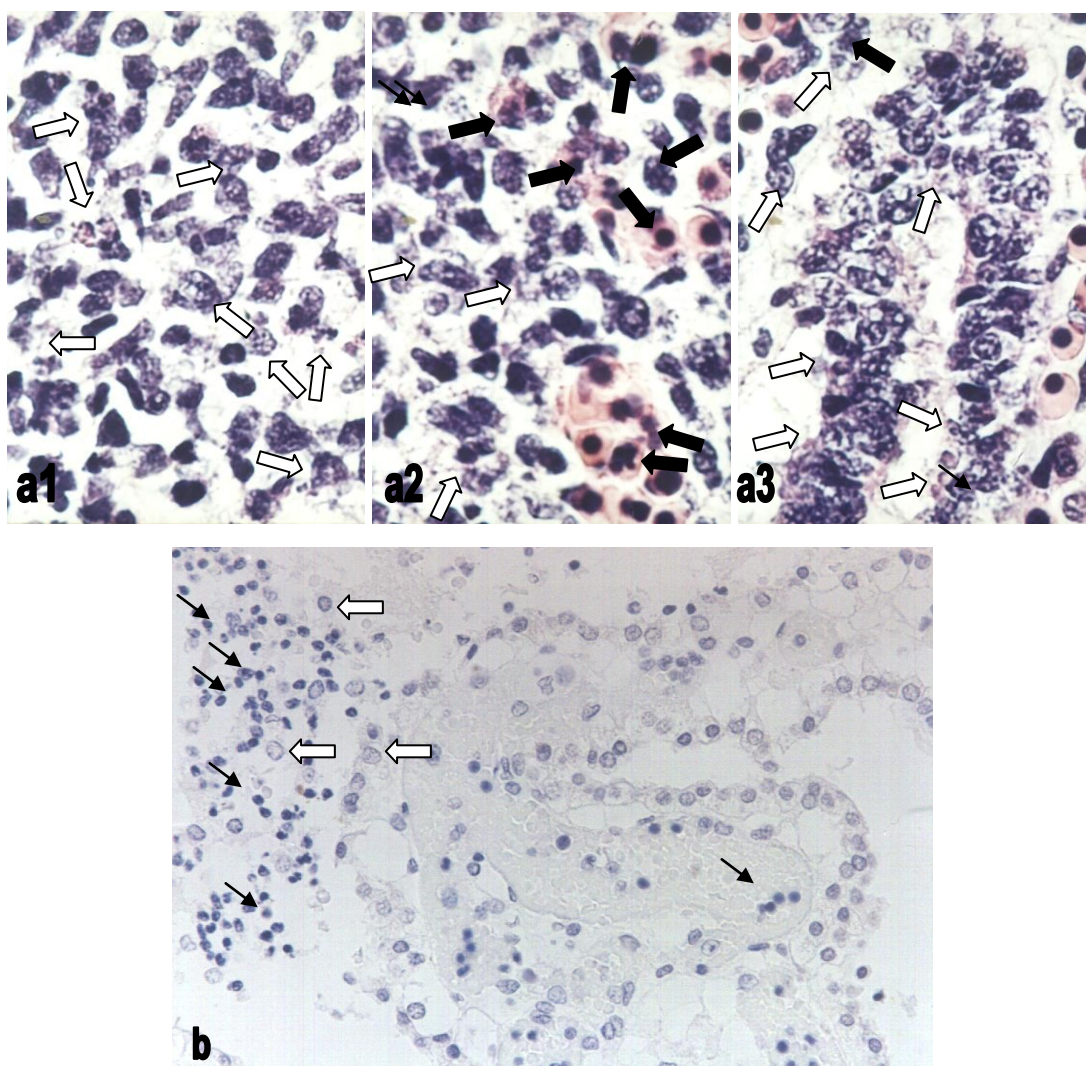


Рис.5.4. Группа 3В. А – эмбрионы 3.5 недель. Множественный апоптоз клеток в количестве 21-26,2% в гепатоцитах (светлые стрелки). **a1** – нервная трубка, **a2** – печень: апоптоз охватывает гепатоциты, а также эритробласты (темные стрелки)), **a3** – формирующийся желудок, слой эпителия слизистой, небольшие группы клеток стромы, эритробласты в капилляре. Апоптоз клеток эпителия значительный, клеток стромы и эритробластов – умеренный. . Увеличение a1-a3 x1000. **b** – плод 21 неделя. Боковой желудочек мозга, сосудистое сплетение. Эпендима лишена иммуноглобулинов, в том числе IgA(-). Апоптоз не определяется. В полости желудочка имеются клетки типа лимфоцитов (темные стрелки) и лейкоцитов (светлые стрелки). Увеличение x400.

5.8. Группа 4. Ранний аллогенный конфликт беременной и эмбриона

В группу 4 вошли 15 эмбрионов 3.5-5 недель развития. Ранее, в главе 4.7. представлены исследования 43 абортных тканей. Клинический диагноз: production of conception или missed abortion, или другие подобные; аллогенный конфликт не упоминался. В данном разделе главы 5 приведены сведения о состоянии сохранившихся эмбрионов тех же случаев, что и в главе 4.7 и того же комплекса методов исследований.

5.8.1. Действие патогенов, апоптоз

В разделе 4.7. показано, что иммунокомпетентные клетки децидуальной ткани – В-лимфоциты и плазмоциты- вырабатывают иммуноглобулины IgG, IgA и особенно IgM. Т-лимфоциты CD3, CD4 хелперы, CD8 цитотоксические (супрессоры) и CD56 NK в этой реакции не участвуют, их количество в группе 4, также как в группе 1, 3А и 3В, одинаковое (Таблица 4.6.). В дальнейшем IgG, IgA и IgM фагоцитируются пятью видами трофобласта эмбрионов, находящихся в контакте с тканью и кровью беременной. Также фагоцитируют иммуноглобулины, моноклеарные фагоциты, эндотелий капилляров и эритробласты в их просвете, находящиеся в тканях ворсин. В перечисленных клетках, фагоцитирующих иммуноглобулины, содержатся рецепторы, участвующие в апоптозе: Fas, FasLigand, p53 и положительная реакция TUNEL, которые определяют пред- и постапоптотические состояния клеток. Клетки эти разрушаются, происходит множественный (патологический) апоптоз. Клетки, находящиеся в ворсинах, не фагоцитирующие иммуноглобулины (фибробласты, гладкомышечные клетки, строма ворсин), апоптозу не подвергаются. Таким образом, апоптоз является ведущим патологическим процессом (Таблица 4.2.).

Состояние эмбриона зависит от степени поражения ворсин, а оно не одинаково. Поражается не вся ворсина целиком, а только разные участки синцитиотрофобласта, менее – цитотрофобласта. Капилляры ворсин повреждаются не одновременно и не одинаково: в небольшом количестве (3-18% ворсин) чаще всего (в 83.7% случаев), а гораздо реже (16.3% случаев) наблюдаются более множественные поражения ворсин (20-33% одновременно). Это связано с неодинаковым образованием патогенов – иммуноглобулинов. Оно более значительно при повторных беременностях. Апоптоз разрушает капилляры тоже участками, но так, что этот небольшой участок полностью разрушается и не восстанавливается. В результате уменьшается среднее количество капилляров в ворсинах или они разрушаются все – образуются аваскулярные ворсины. Но на этом повреждения не прекращаются: образуются ворсины очень крупные и отечные, без сосудов: вода входит в них через трофобласт, а выходить некуда – нет капилляров. Все эти изменения ворсин и всего плацентарного барьера приводит к нарушению обмена веществ эмбрионов. Но и это еще не все: тяжелые поражения вызывает апоптоз клеток эмбрионов.

5.8.2. Состояние эмбрионов

Из сохранившихся тканей 15 эмбрионов на 3.5 - 4 неделе развития абортровано 8 эмбрионов (53.3%), на 5, 6, 7 неделях произошло по 2 аборта с

тканями эмбрионов (по 13.3%), а ткани последнего эмбриона (6.7%) выделены на 8 неделе (Таблица 4.10.). Эта очередность гибели эмбрионов и аборта имеет причины.

Определение размеров туловища эмбрионов в значительной степени затруднено фрагментацией его при аборте, но все же у эмбрионов 3.5 – 4 недель размеры определены: от темени до копчика они составляют 1.8 - 2 мм, при норме 3 – 5 мм (Drews U., 1995; Sadler T.W., 1995; Robboy S.J. et al., 2002; Милованов А.П., Савельев С.В., 2006). В то же время органогенез этих эмбрионов соответствует времени развития. Пороков развития нет. В части случаев в децидуальной ткани имелись небольшие некрозы с лейкоцитарным окружением, микрофлора не определялась. Распространение этого процесса на ворсины хориона и эмбрион отсутствовали.

Проведенные исследования эмбрионов группы 4 выделили два варианта изменений. В одном из них ведущим является особенно множественный апоптоз: в самом эмбрионе происходит массовое разрушение клеток различных органов, капилляры ворсин повреждены немного. В другом варианте в эмбрионе апоптоз умеренный, он во многих органах, но количественно меньше, чем в первом варианте, более заметно нарушение кровообращения: многие сосуды эмбрионов спавшиеся, не содержат эритробластов. Имеются также тяжелые изменения в ворсинах хориона, в их сосудах (Таблица 5.7.).

5.8.3. Множественный апоптоз клеток органов эмбрионов

В эту часть вошли ткани 9 эмбрионов. Аборты у 6 из них прошли на 3.5 – 4 неделе, на 5, 6, 7 неделях по одному. У эмбрионов, абортированных на 3.5 – 4 неделе, во многих ворсинах в синцитиотрофобласте, а местами и в цитотрофобласте, имеются участки «апоптоза со вторичным некрозом» (Correia-da-Silva G. et al., 2004). Апоптоз некоторых моноцитов, а также группы эритробластов в апоптозе охватывают до 26.7% и даже до 33.05% ворсин. Участки сосудов, где это происходит, тоже разрушаются и не восстанавливаются. Но местами пролиферация не прекращается: в отдалении в сохранных капиллярах имеются единичные Ki67+ эритробласты, а в строме ворсин – Ki67+ моноциты. В итоге число ворсин с нормальными сосудами уменьшается умеренно и количество пораженных (аваскулярных или с облитерированными сосудами) возрастает тоже умеренно (Таблица 5.7.).

Эмбрионы, погибшие и абортированные на 3.5 – 4 неделе, являются следствием множественного апоптоза (Рис.5.5, 5.6). Особенно поражаются нейробласты в наружном слое нервной трубки, в ганглиях и зачатках глаз, гепатоциты, клетки мезодермы, мезенхимы. В них одновременно апоптоз проявляется в 20-60% всех клеток этих структур. В эпителии кожи и стомодеум, первичной кишки, в мезонефрос, эритробластах в полостях сердца и сосудах апоптоз охватывает около 20% клеток, а в желточном мешке и амнионе – около 10%. В части клеток упомянутых органов содержится J-цепь, IgG и IgA, иногда IgM. Клетки с иммуноглобулинами имеют нормальный вид или находятся на начальных этапах апоптоза. Но в разрушенных клетках, от которых остаются только распадающиеся глыбки апоптоза, J-цепь и иммуноглобулины тоже исчезают. В мозговой трубке содержится IgG(+) нейробластов $40.8 \pm 10.94 / 50000 \mu\text{m}^2$ и разрушенных апоптозом IgG(-) 13.2 ± 3.19 комочков. В печени имеются $42.02 \pm 7.12 / 50000 \mu\text{m}^2$ IgG(+) гепатоцитов и разрушенных IgG(-) 18.4 ± 1.81 . В мезенхиме клеток IgG(+) 30.01 ± 4.02 и уничтоженных апоптозом IgG(-) $17.0 \pm 2.42 / 50000 \mu\text{m}^2$. Это означает, что готовящихся к апоптозу и уже прошедших его одоверенно

Таблица 5.7. состояние ворсин группы 4 с учетом степени апоптоза тканей эмбрионов и сроков аборта

Состояние ворсин	Средние данные		Множественный апоптоз в тканях эмбрионов		Умеренный апоптоз в тканях эмбрионов	
			Сроки аборта (недели)			
	Группа 1	Группа 4	3.5-4	5-7	4	5-8
Капилляры нормальные (%)	76.37 ± 2.72	28.53 ± 2.97 ^a	59.78 ± 3.92 ^{ab}	43.24 ± 3.54 ^{abc}	13.71 ± 1.24 ^{abcd}	36.32 ± 3.04 ^{ace}
Облитерация или опустошение капилляров (%)	18.83 ± 1.63	56.73 ± 3.33 ^a	28.91 ± 2.11 ^{ab}	35.02 ± 2.27 ^{ab}	69.48 ± 4.56 ^{abcd}	39.31 ± 3.18 ^{abce}
Аваскулярные ворсины (%)	4.82 ± 0.28	14.74 ± 2.31 ^a	10.62 ± 1.16 ^a	15.67 ± 1.22 ^{ac}	3.69 ± 0.35 ^{abcd}	15.83 ± 1.47 ^{ace}
Среднее количество сосудов в ворсине	5.29 ± 0.83	2.07 ± 0.68 ^a	2.56 ± 0.14 ^a	2.15 ± 0.11 ^{ac}	2.0 ± 0.12 ^{ac}	1.86 ± 0.15 ^{ac}
Отечные ворсины(%)	26.91 ± 3.01	47.12 ± 3.35 ^a	34.19 ± 3.16 ^b	38.07 ± 2.42 ^{ab}	75.94 ± 4.18 ^{abcd}	70.02 ± 3.11 ^{abcd}
Апоптоз капилляров (% ворсин)	1.52 ± 0.04	18.53 ± 4.01 ^a	9.72 ± 0.96 ^{ab}	6.62 ± 0.72 ^{abc}	16.83 ± 1.33 ^{acd}	4.41 ± 0.85 ^{abce}

a,b,c,d,e - достоверные отличия ($p < 0.05-0.001$) общих показателей групп 1 и 4 и граф апоптоза множественного и умеренного, со сроками абортов. Таблица показывает связь сроков аборта с интенсивностью апоптоза и разрушения ворсин. Влияние разрушения плацентарного барьера на причины гибели эмбриона обсуждается в тексте.

имеется более 50%. И это только действие IgG, а поступление IgA и IgM усиливает действие патогена и повышает количество гибнувших клеток. В мозговой трубке содержались IgA(+) 2.11 ± 0.43 нейробластов, а IgA(-) $51.5 \pm 3.28 / 50000 \mu\text{m}^2$ разрушенных остатков. То же в печени: IgA(+) 5.25 ± 0.37 гепатоцитов и IgA(-) $37.08 \pm 2.98 / 50000 \mu\text{m}^2$ остатков. Это дает основание полагать, что при продолжающемся значительном поступлении патогенов весь орган и весь организм разрушаются очень быстро. По данным экспериментов (Halperin R., et al., 2008) полный апоптоз клеток гастротомии крыс, которым вводили сыворотку женщины в маточную трубу, происходит в течение 2 – 6 часов.

Кровообращение ворсин в случаях аборта на 3.5 – 4 неделе почти во всех случаях удовлетворительное. Это выражается в сохранности $59.78 \pm 3.92\%$ ворсин с нормальным состоянием, в том числе капилляров (Таблица 5.7.). В самом эмбрионе сосуды органов и полости сердца заполнены эритроблантами, часть которых с иммуноглобулинами и J-цепью. Лишь в одном случае только в нервной трубке большинство сосудов не содержат эритробластов, они опавшие или заполнены плазмой. Некрозы нейробластов не определяются, строма нервной трубки несколько отекает. Количество апоптозов нейробластов не отличается от наблюдавшихся в других случаях. В этом случае незадолго перед абортом произошло нарушение сосудов нервной трубки, аналогичное наблюдающимся в ворсинах хориона при аллогенном конфликте и некоторых других процессах (инфекция – группа 3В).

Компоненты апоптоза: Fas, FasLigand и p53 иногда отсутствуют или отмечаются при апоптозе каждой клетки органов, моноцитов или эритробластов в сосудах. Они встречаются также в желточном мешке. bcl2 в тканях эмбрионов редко встречается в моноцитах. Реакция TUNEL выявляет апоптоз ядер клеток, а затем их цитоплазму, что отражает процесс распространения апоптоза.

SC, как рецептор СИС, содержится в эпидермисе кожи, нотохорде, первичной кишке, эпикарде и перикарде, эпителии канальцев мезонефрос, желточном мешке и др. Это означает сохранность СИС. Интерлейкин 2, его рецептор IL2R α (CD25+), один из факторов роста. Он широко распространен в органах даже в таких тяжелых случаях как аллогенный конфликт у ранних эмбрионов. IL2R α содержится в тех участках органов, где апоптоз менее распространен – в частях нервной трубки, группах клеток ганглиев, в миокарде и других формирующихся органах, в капиллярах, активно растущих в этом периоде, и других. В таком же состоянии пролиферация клеток эмбрионов: она слабеет, но не прекращается. Отдельные Ki67(+) клетки встречаются даже в органах, в которых происходит апоптоз. Сосредоточена пролиферация в желточном мешке, где $69.4 \pm 10.11\%$ Ki67(+) различных видов клеток.

Мононуклеарные фагоциты состоят из $3.4 \pm 0.21\%$ CD68(+) моноцитов и $96.6 \pm 18.2\%$ CD68(-) промоноцитов. Они крупные, с большим ядром и фагосомами, четко отличимые от моноцитов. Общее количество мононуклеарных фагоцитов в зоне плацентарного барьера и эмбриона не уменьшается (Таблица 4.5.). Но отсутствие увеличения их количества (как это отмечено в группе 3А – Таблица 5.5.) свидетельствует о недостаточности функций мононуклеарной системы, более значительной, чем в тяжелой инфекции в группе 3В. В желточном мешке на 3.5 – 4 неделе кроме эритробластов формируются еще CD34+ крупные, округлые предшественники их - BFU-E (Рис.4.16.а1). В нормальных условиях они в кровотоке не выходят. Но в аллогенном конфликте, тяжелых инфекциях и в других процессах их можно увидеть в полостях сердца и даже в капиллярах ворсин. Они свободны,

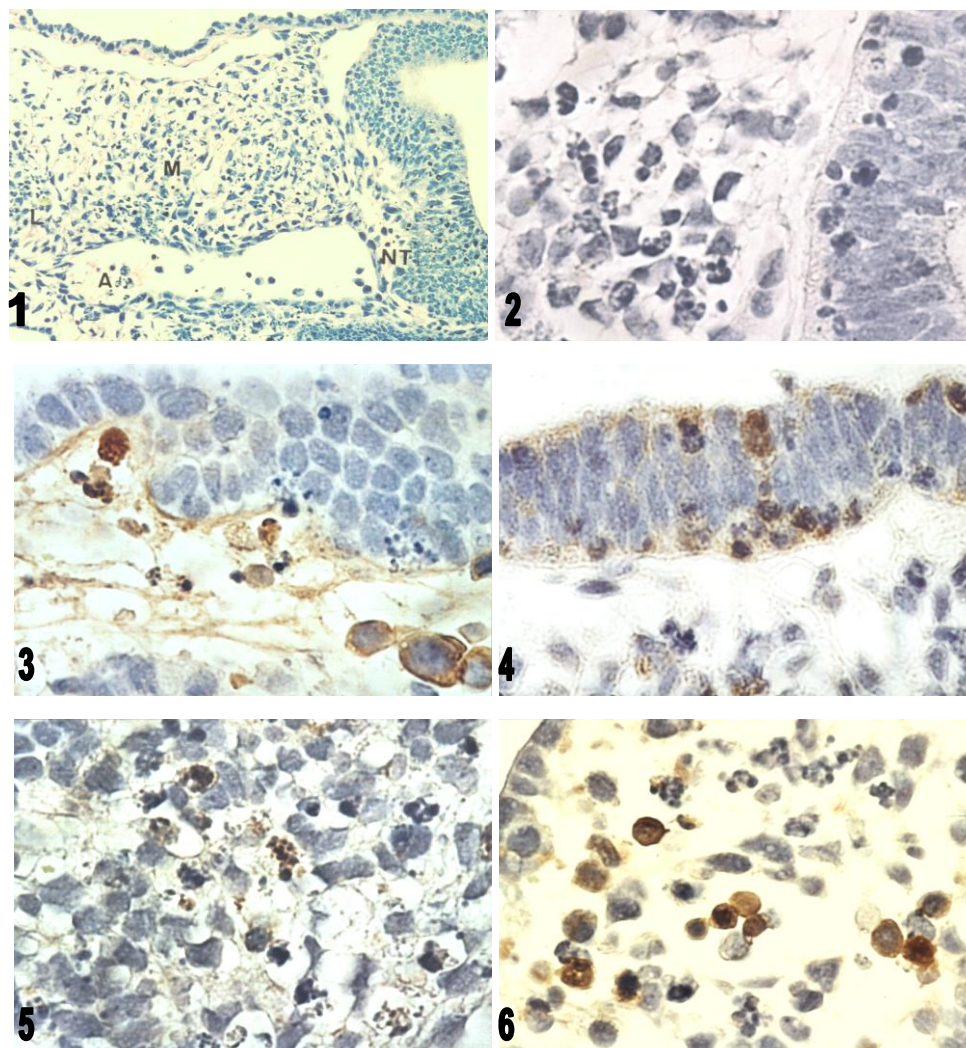


Рис.5.5. Группа 4. Множественный апоптоз клеток органов эмбрионов. Все случаи 3.5 недель развития. **1** – общая верхняя часть туловища: нервная трубка (NT), мезенхима (M), аорта (A), печень (L), флора отсутствует (окраска по Giemsa). **2** – в мезенхиме (слева), нервной трубке (справа) FcRIIA (CD16-). **3 и 4** – нервная трубка (выше), мезенхима (ниже): IgA(+) и IgG(+) содержатся в части клеток, в том числе в фагоцитах. Распавшиеся клетки теряют иммуноглобулины. **5 и 6** – мезенхима, то же, что 3 и 4: часть клеток, в том числе фагоциты, содержат иммуноглобулины, которые также разрушаются в апоптозе. Увеличение 1 x200, 2-6 x1000.

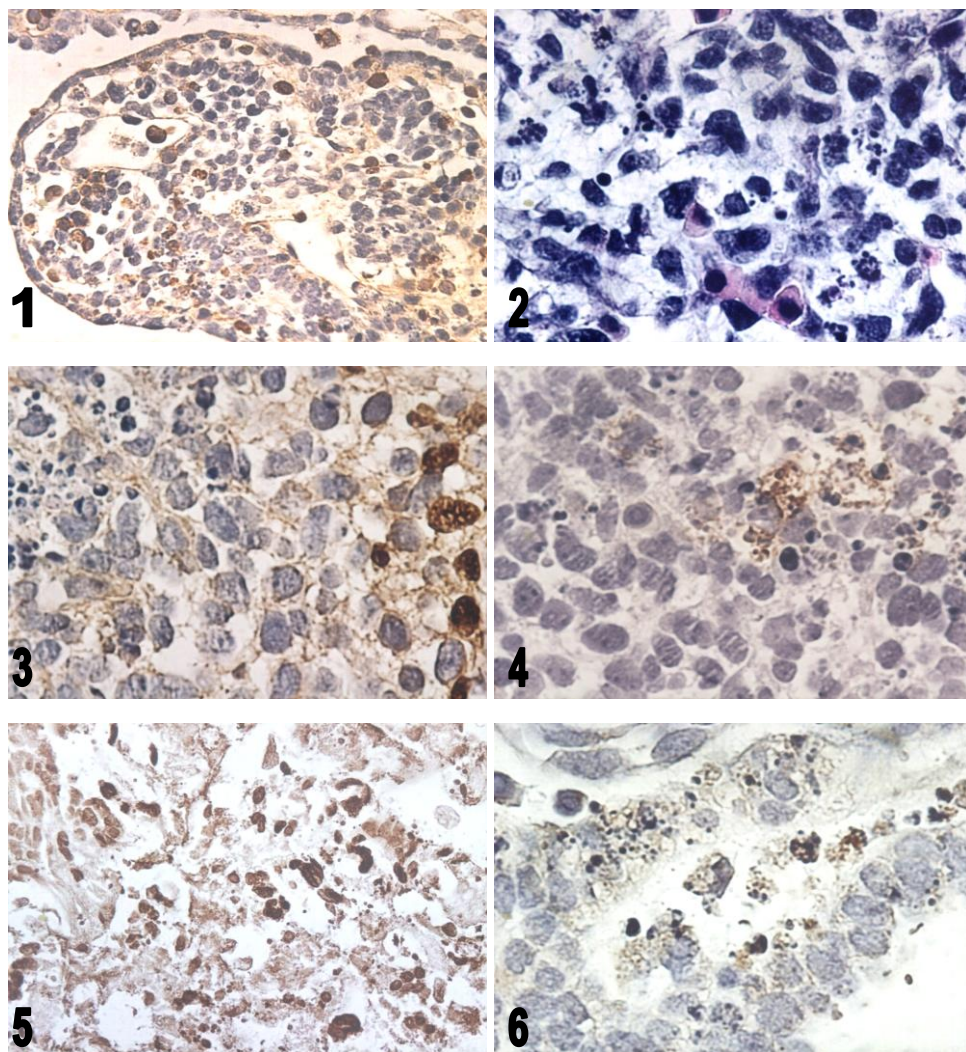


Рис.5.6. Группа 4. Множественный апоптоз клеток. Развитие 3.5-4 недели. **1-5** – печень. IgG(+) гепатоциты и фагоциты (многие в сосудах) внешне сохранены, IgG(-) много гранул разрушенных апоптозом клеток. **2, 3** – последовательные морфологические этапы апоптоза: захват иммуноглобулинов, пикноз ядра, распад ядра и всей клетки на мелкие глыбки, разрушение иммуноглобулинов, дальнейший распад на пыль, исчезновение. **4** – CD68(+) сохраняется и на мелких гранулах. **5** – реакция TUNEL положительна на всем процессе апоптоза – еще до пикноза ядра и вплоть до образования мелкой пыли. **6** – формирующийся желудок: количество апоптоза более 50% клеток. Увеличение 1 x100, 5 x400; 2, 3, 4, 6 x1000.

этим отличаются от эндотелия сосудов, он тоже CD34(+), но расположен по стенке капилляров, плоский.

Пролиферация клеток продолжается и в других местах (Рис.5.7). В амнионе Ki67(+) пролиферирующих клеток меньше, чем в желточном мешке – у амниона их $19.0 \pm 1.2 / 50000 \mu\text{m}^2$. Не прекращается пролиферация трофобласта. Клетки инвазивного трофобласта находятся в децидуальной ткани беременной рядом с В-лимфоцитами. Они интенсивно фагоцитируют аллогенные антитела, но и сами гибнут при этом. Эту потерю пытаются восполнить группы клеток пролиферирующего трофобласта: количество групп их резко уменьшается (Таблица 4.4.), их клетки перемещаются в децидуальную ткань и становятся инвазивным трофобластом. Но этого недостаточно: количество инвазивного трофобласта резко уменьшается. Путь для патогенов открывается. Следующая система защиты действует уже на территории ворсин и самого эмбриона – это моноклеарные фагоциты. Выше отмечена их напряженная пролиферация с образованием большого количества промоноцитов. Но и эта система недостаточна (Таблица 4.5.).

В случаях с множественным апоптозом было 3 эмбриона, у которых аборт произошел на 5, 6 и 7 неделях (Таблица 5.7.). У них имеются различия с эмбрионами, у которых аборт произошел раньше – на 3.5-4 неделе. Это уменьшение количества ворсин с нормальными капиллярами, средним числом капилляров в ворсинах и ворсин с апоптозом капилляров, но увеличение количества ворсин аваскулярных или с опустошенными капиллярами. Это показывает, что в случаях с абортами на 5, 6, 7 неделях действие патогена было слабее, но более длительным, чем у эмбрионов, у которых апоптоз был на 3.5 – 4 неделе. Остальные проявления действия патогена аналогичны: на участках синцитиотрофобласта, а иногда и цитотрофобласта развивается апоптоз, переходящий в некроз; уменьшается количество пролиферирующих Ki67(+) клеток трофобласта (кроме синцитиотрофобласта, который вообще не делится) (Таблица 4.4.). Инвазивный трофобласт и моноклеарные фагоциты активно фагоцитируют иммуноглобулины беременной, а затем сами разрушаются (Таблица 4.9.). Сохраняется количество моноклеарных фагоцитов ворсин ($6.15 \pm 0.83 / 50000 \mu\text{m}^2$, Таблица 4.5.).

Эмбрионы представлены мелкими кусочками кожи, печени, зачатка глаза, мышечной ткани, несколькими ребрами, мезенхимой и другими. В них имеются значительные скопления клеток в состоянии апоптоза на различных этапах разрушения. Их состояние и изменения близки к наблюдавшимся у эмбрионов, абортированных на 3.5 – 4 неделе. Несколько меньше количество апоптозных клеток: в печени оно 28.3 ± 4.9 , в мезенхиме 13.1 ± 0.92 , в хрящах 10.62 ± 0.17 , в мышцах $1.8 \pm 0.03 / 50000 \mu\text{m}^2$. В амнионе и хорионе клетки в состоянии апоптоза составляют $12.25 \pm 2.11 / 50000 \mu\text{m}^2$. Кровоснабжение эмбрионов с абортами на 5 – 7 неделях представляется удовлетворительным: в тканях имеются капилляры, содержащие эритробласты. Это подтверждает наличие немалого количества ($43.24 \pm 3.54\%$, Таблица 5.7.) нормальных ворсин. Все это означает, что патогенные иммуноглобулины достаточно свободно проходили через плацентарный барьер к эмбриону.

5.8.4. Умеренный апоптоз клеток органов эмбрионов

В этом разделе рассматриваются ткани 6 эмбрионов, у которых апоптоз умеренный – поражается не более $20 / 50000 \mu\text{m}^2$ клеток некоторых органов. В двух случаях аборт был на четвертой неделе развития, а остальные четыре на 5, 6, 7 и 8 неделях. В ранних абортах (четвертая неделя) функционировали капилляры только

13.71 ± 1.24% ворсин (Таблица 5.7.), а остальные были аваскулярные, отечные или с облитерацией капилляров. Эмбрионы во всех случаях и при абортах на 4-ой и на 5 – 8 неделях были в виде мелких кусочков тканей: нервной трубки, кожи, кишки, печени, мезонефрос, мезенхимы. Клетки в состоянии апоптоза различных стадий распределялись мелкими группами количеством 3 – 8 /50000 μm^2 в коже, кишке, мезонефрос и 15 – 20 /50000 μm^2 в нервной трубке, печени и мезенхиме. Часть клеток в апоптозе имела IgG, IgA и IgM, а распавшиеся в апоптозе клетки их не содержали. Некроз тканей, кровоизлияния и другие изменения отсутствовали.

Количество мононуклеарных фагоцитов в ворсинах при аборте на 4 неделе значительно уменьшено (3.26 ± 1.0 /50000 μm^2), моноцитов всего $11.94 \pm 1.28\%$, но промоноцитов много – $88.06 \pm 1.78\%$ (Таблица 5.8.). В случаях абортот 5 – 8 недель количество моноцитарных фагоцитов и в том числе моноцитов повышено, очевидно, увеличено время для созревания промоноцитов. Их образование происходит в основном в желточном мешке ($21.08 \pm 1.08\%$ фагоцитов Ki67+), но и в ворсинах. Пролиферируют также цитотрофобласт (Ki67+ $29.64 \pm 2.34\%$) и инвазивный трофобласт (Ki67+ $23.53 \pm 2.05\%$). Фагоциты содержат рецептор интерлейкина 2 (IL2R α Ki67+ $17.34 \pm 0.97\%$).

Таблица 5.8. Влияние длительности патологического процесса (3.5-4 и 5-8 недель) на образование мононуклеарных фагоцитов в ворсинах при аллогенном конфликте (группа 4)

	Множественный апоптоз в тканях эмбрионов		Умеренный апоптоз в тканях эмбрионов	
	Сроки аборта (недели)			
	3.5 - 4	5 - 8	3.5 - 4	5 - 8
Количество мононуклеарных фагоцитов /50000 μm ²	5.16 ± 1.33	11.28 ± 2.17 ^a	3.26 ± 1.0	7.85 ± 1.57 ^a
из них моноциты (%)	42.06 ± 6.65	72.3 ± 7.54 ^a	11.94 ± 1.23 ^b	32.64 ± 4.15 ^{ab}
из них промоноциты (%)	57.43 ± 6.41	27.72 ± 6.52 ^a	88.06 ± 1.78 ^b	67.36 ± 6.83 ^{ab}

^a - достоверные различия ($p < 0.05-0.001$) сроков аборта 3.5 – 4 и 5 – 8 недель при одинаковом состоянии апоптоза (количество фагоцитов и соотношения моноцитов и промоноцитов).

^b - достоверные различия ($p < 0.02-0.001$) множественного и умеренного апоптоза при сроках аборта 3.5 – 4 и 5 – 8 недель в моноцитах и промоноцитах. Объяснение в тексте.

В случаях раннего (4 неделя) и позднего (5 – 8 недель) аборта имеются существенные различия. При раннем аборте апоптоз капилляров и облитерация их бывают часто, а ворсин с нормальными капиллярами уцелело мало (Таблица 5.7.). А при абортах на 5 – 8 неделях количество апоптоза капилляров малое, но нормальных капилляров и аваскулярных ворсин много. Это означает, что в случаях ранних абортот количество аллогенных иммуноглобулинов было большим, а при поздних абортах доза была малой, но действовала долго.

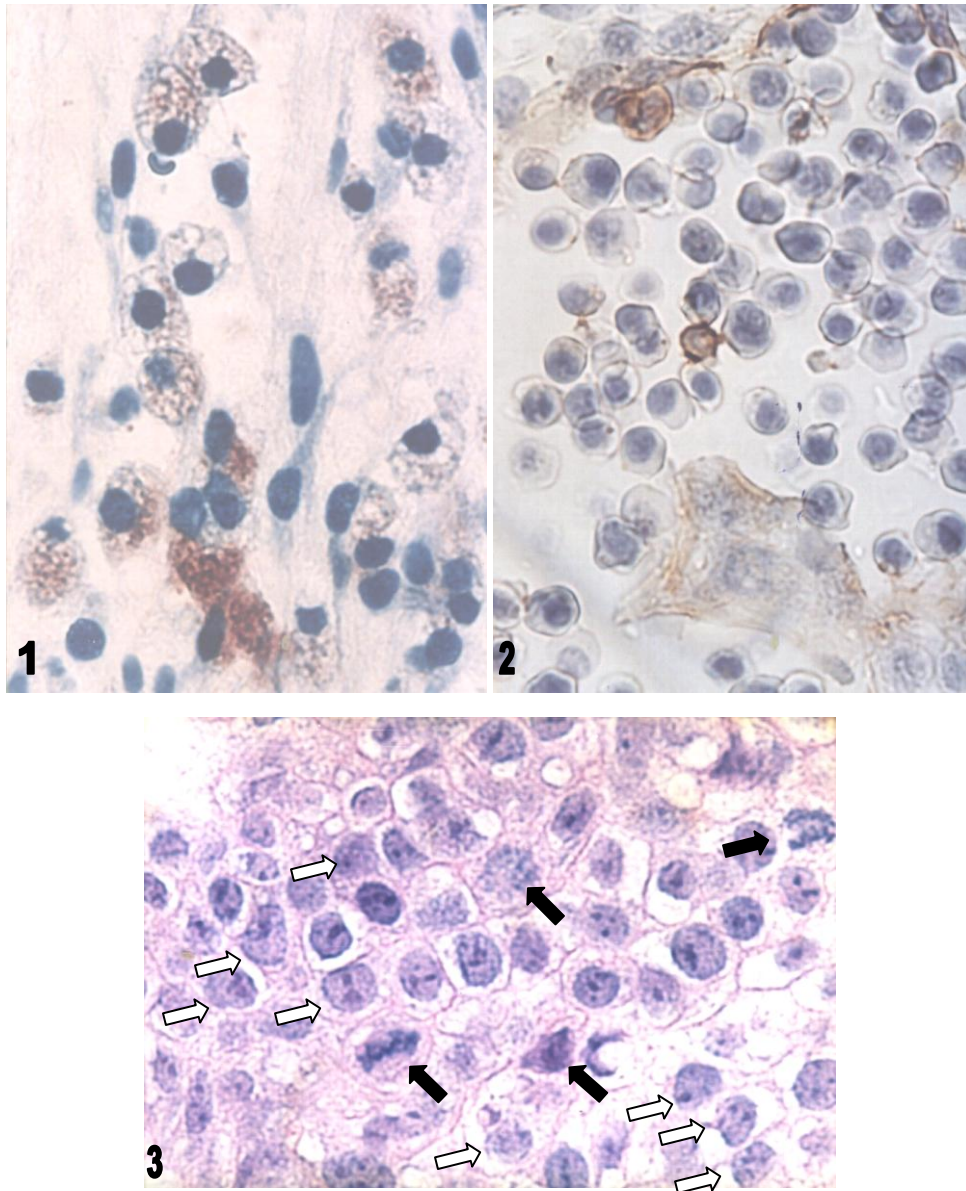


Рис.5.7. Группа 4. Множественный апоптоз не исключает пролиферацию еще сохранившихся клеток. **1** – развитие 3.5 недель В мезенхиме количество CD68(+) моноцитов составляет 15%, а промоноцитов CD68(±) или (-) поднялось до 85%. **2** – развитие 3.5 недель. В крови сердца и в других сосудах появляются CD34(+) BFU-E, предшественники эритробластов. **3** – развитие 8 недель. В участке пролиферации трофобласта апоптоз (светлые стрелки) происходит в 42.6% клеток, а рядом имеется 7.4% клеток в состоянии митоза (темные стрелки). Подобные процессы отмечены в нервной трубке, печени, мезенхиме и др. Увеличение x1000.

5.8.5. Заключение по группе 4

Множественный патологический апоптоз – действие аллогенных антител. Проведенные исследования (главы 4.7 и 5.8) показали, что главным фактором повреждения тканей эмбриона и его оболочек являются аллогенные антитела. Другие патологические факторы, в частности, различная микрофлора (группы 3А и 3В) вызывают многие иные патологические процессы (некроз, лейкоцитарная инфильтрация и другие), которых нет в тканях эмбрионов группы 4 (Таблица 4.2). В группе 4 они иногда встречаются в децидуальной ткани и в межворсинчатых лакунах без распространения на ткани ворсин и эмбриона, как сопутствующие заболевания. В тканях эмбрионов, оболочек и ворсин группы 4 полностью отсутствуют иммунокомпетентные клетки беременной: натуральные киллеры (NK), все виды лимфоцитов, макрофаги и нейтрофилы. Лишь в некоторых случаях немного нейтрофилов и макрофагов выявляются в сгустках фибрина на поверхности разрушенного участка синцитиотрофобласта (Таблица 4.8.), но этот фибрин – из крови беременной в лакунах. Больше того: в децидуальной ткани и в крови лакун беременной в случаях группы 4 количество лимфоцитов CD3, хелперов CD4, цитотоксических CD8 и NK, CD56 не изменяется (Таблицы 4.6. и 4.7.), они не участвуют в этом процессе. Все это позволяет при раннем аллогенном конфликте исключить возможность клеточных иммунных реакций со стороны беременной.

В децидуальной ткани и в крови лакун беременных отмечено увеличение количества В-лимфоцитов и плазмочитов (Таблицы 4.6. и 4.7.). Это означает увеличение активности гуморальных иммунных реакций. Они интенсивно синтезируют IgG, IgA и IgM. Эти иммуноглобулины фагоцитируются клетками инвазивного трофобласта, расположенного здесь же, в децидуальной ткани, а в крови беременной – клетками трофобласта, покрывающими лакуны, и синцитиотрофобластом. Проникающие в строму ворсин иммуноглобулины захватываются мононуклеарными фагоцитами. В группах 1, 3А и 3В небольшие количества иммуноглобулинов располагаются на оболочке клеток или в их цитоплазме (Рис.6.1.), а в группе 4 много их находится на оболочках, но еще больше – в цитоплазме фагоцитов (Таблица 5.3.), в эритроблестах и в эндотелии капилляров. Здесь все эти клетки разрушаются путем апоптоза. Характерно, что те же фагоциты групп 3А и 3В, а также макрофаги децидуальной ткани беременной группы 4 фагоцитируют иммуноглобулины в гораздо меньшем количестве, и сами они не подвергаются апоптозу (Таблица 4.9. и диаграмма 4.2.). Это означает, что антитела беременных групп 3А и 3В не патогенны для них и также для своих макрофагов группы 4. Но они очень патогенны для мононуклеарных фагоцитов, трофобласта ворсин и других тканей зародышей группы 4.

Также подвергаются апоптозу клетки в органах и тканях эмбрионов. Они вначале захватывают иммуноглобулины, затем происходит апоптоз, а вместе с распадающейся клеткой разрушаются иммуноглобулины. Физиологический апоптоз клеток происходит во всех эмбрионах при формировании органов, но он ограничен: это не множественный патологический апоптоз. Всё отмеченное показывает, что иммуноглобулины беременной в условиях группы 4 патологичны для эмбриона. Они являются началом аллогенного конфликта.

Физиологический апоптоз обладает своими особенностями. Его цель – разрушить ткань, в которую он направлен для создания новых клеток для нового органа или ткани. Пример этого – перестройка нервной трубки в мозге, когда на месте нейробластов образуется масса нейронов различного строения и функций, а также различных клеток глии. Другой пример - превращение кармана Rathke глотки

в переднюю долю гипофиза, и многие другие. По-видимому, цель патологического апоптоза вообще и, в частности - раннего аллогенного конфликта - это полностью разрушить ненужные клетки и органы, которые потом не должны восстанавливаться. Наглядно видно как апоптоз ликвидирует капилляры ворсин – она становится аваскулярной. Апоптоз не разрушает подряд все клетки и ткани органа, а только те, что предназначены для разрушения.

Аллогенная иммунизация беременной. Аллогенный антиген, вызывающий ранний конфликт беременной и эмбриона, - сложная проблема. В 1944 году P. Medavar предложил концепцию «плод, как аллотрансплантат». Предполагалось, что гибель зародыша происходит путем клеточной иммунной реакции с участием лимфоцитов Т супрессоров и NK. Это мнение вначале было принято. Оно ставит вперед главные комплексы гистосовместимости МНС I (HLA-A, B, C) МНС II (HLA-DR, -DQ, -DP). Но их нет в тех тканях эмбрионов, которые должны находиться вплотную с децидуальными тканями беременной. Поиски идут очень активно*. Все больше находят антигенов трофобласта, соответствующих этим свойствам. Это антигены МНС II (HLA-G, HLA-G1, HLA-G1A и -G1B, HLA-G2, HLA-E, HLA-L). Они содержатся в инвазивном трофобласте, в группах пролиферирующих клеток ворсин, в трофобласте, покрывающем лакуны и спиральные артерии, в ворсинах: в моноцитах, эндотелии и эритроблестах капилляров, в клетках амнионов; содержатся эти антигены на всем протяжении внутриутробного развития, но ослабевают на III триместре. Обширные варианты HLA-G выявлены у здоровых японцев (Tamaki J. et al., 1993; Yamashita T. et al., 1996), у афроамериканцев и народов кавказской (европеоидной) расы (Hviid T.V. et al., 1997).

В общем, какие именно антигены вызывают аллогенный конфликт - еще не известно. Мы оставим этот вопрос и рассмотрим этапы развития аллогенной иммунизации беременной и последующие этапы конфликта.

Этапы аллогенного конфликта беременной и эмбриона. Размеры эмбрионов 3.5 – 4 недель развития вдвое меньше нормальных (глава 5.8.2.), притом, что их органогенез соответствует указанному возрасту. Подобная задержка размеров указывает на то, что длительность патологического процесса предшествующего абортует составляет около 1.5 – 2 недель.

На первой неделе нормального развития морула окружена оболочкой оплодотворения (membrana fertilizata), а вокруг нее – клетки беременной в виде лучистого венца (corona radiata) (Рис.2.1.). Они питают и защищают морулу. В конце первой и в начале второй недели эта защита разрушается, а на поверхности бластоцисты образуются клетки эмбриона – будущий трофобласт. С этого времени возможно выявление несовместимых антигенов зародыша макрофагами (антиген-

*- Thomas M.L., et al., 1985; Kovats S., et al., 1990; Chumbley G., et al., 1993; Tamaki J., et al., 1993; Bright N.A., et al., 1994; McMaster M. et al., 1995; Hara N. et al., 1996; Yamashita T. et al., 1996; Jurisicova A. et al., 1996; Hviid T.V. et al., 1997; Loke Y., King A., 1997; Rouas-Freiss N., et al., 1997; LeBouteiller P.L. et al., 1999; Navarro F. et al., 1999; Goldman-Wohl D.S., et al., 2000, 2007; Kapasi K. et al., 2000; Contini P., et al., 2003; Landenberg P.van, et al., 2003; Laird S.M. et al., 2003; Hunt J.S. et al., 2005; Milchev N. et al., 2006; Shoenfeld Y. et al., 2006; и другие

представляющими клетками беременной). С этого времени начинается формирование иммунного ответа и сам ответ. Все процессы развития раннего аллогенного конфликта беременной и эмбриона составляют шесть этапов.

Первый этап – распознавание несовместимого антигена у зародыша выполняют макрофаги беременной, находящиеся в децидуальной ткани и в лакунах. Они выявляют аллогенные антигены в трофобласте в конце второй недели развития.

Второй этап – передача полученной информации о наличии аллогенного гена иммунокомпетентным клеткам беременной – CD4 хелперам и CD20 В-лимфоцитам. Все они располагаются близко друг от друга в децидуальной ткани. С кровью лакун макрофаги разносят информацию на весь организм беременной.

Третий этап – синтез аллогенных антител. Он занимает еще около двух недель. При повторных аллогенных конфликтах, если женщина иммунизирована при прежних неудачных беременностях, и аллогенные антитела имеются в ее крови в достаточном количестве, то первые три этапа сокращаются примерно на одну неделю.

Четвертый этап – транспорт иммуноглобулинов к тканям эмбриона, главным образом к поверхностным клеткам разного вида трофобласта. Этот этап проходит быстро, так как трофобласт и В-лимфоциты расположены вблизи. Первые четыре этапа конфликта проходят в ранние периоды развития: морулы, бластоцисты и начала эмбриона. В этот период – вторая и третья недели развития, зародыши еще очень малы (2-5 мм), и стимуляция образования аллогенных антител умеренная.

Пятый этап – аллогенный конфликт в зоне плацентарного барьера начинается с фагоцитоза иммуноглобулинов инвазивным трофобластом и трофобластом покрывающим лакуны. Количество фагоцитируемых антител значительно: в срезе препарата каждого фагоцита IgG, IgA и IgM вместе составляют около 150 фаголизосом. Это гораздо больше, чем фагоцитирует инвазивный трофобласт при инфекциях (группы 3А и 3В) и макрофаги беременной в группе 4 (Таблица 4.9., Диаграмма 4.2.). Эти два вида трофобласта разрушаются вместе с находящимися в нем антителами. Но борьба продолжается. Группы пролиферирующего трофобласта на ворсинах продвигаются вплотную к децидуальной ткани, образуя так называемые якорные ворсины. Их трофобласты тяжками продвигаются вглубь децидуальной ткани - это уже инвазивный трофобласт и трофобласт, покрывающий лакуны. Они продолжают фагоцитировать антитела и тоже гибнут. В результате количество групп пролиферирующего трофобласта сокращается почти в пять раз, а инвазивного трофобласта – более чем в 6 раз (Таблица 4.4.). Так фагоцитирует первая линия защиты от воздействия аллогенных антител в начале эмбрионального периода.

Аллогенные антитела достигают некоторых ворсин. Происходит то же: покрывающий ворсины синцитиотрофобласт фагоцитирует их участками. На них происходит апоптоз, который переходит в некроз. Вначале эти места не покрыты фибрином (Таблица 4.10), но затем, на 5-7 неделях фибрин накапливается и покрывает участки на 30-37% ворсин. Часть аллогенных антител синцитио- и цитотрофобласт успевают перенести в строму ворсин. Здесь их встречают моноциты – следующая линия защиты. Они тоже фагоцитируют аллогенные антитела, часть их разрушается апоптозом, а часть выносит антитела в капилляры ворсин. Здесь эндотелий капилляров и эритробласты апоптозируют и исчезают. В результате количество аллогенных антител сокращается, разрушается только часть капилляров, эритробластов и моноцитов: в 83.7% случаев повреждается лишь 3-18% ворсин, а более значительные повреждения – 20-33% только в 16.3% случаев. Малое количество аллогенных антител может быть следствием двух причин.

Первая – возможно малое образование антител на малых по размерам – 2-5 мм – эмбрионах при 3.5-4 неделях беременности. Вторая причина представляется более вероятной – массовое разрушение аллогенных антител многими видами фагоцитов. Фагоциты тоже массово гибнут, но они в значительной степени восстанавливаются (Таблицы 4.4., 4.5., 4.6.).

Итоги пятого этапа действия аллогенных антител значительные. Разрушение небольших участков капилляров приводит к прекращению циркуляции крови из-за облитерации или тромбоза. Полностью разрушенные капилляры не восстанавливаются – образуются аваскулярные ворсины. Синцитио- и цитотрофобласт, частично разрушенные, пропускают воду из лакун в ворсины, но из-за уменьшения количества или отсутствия капилляров вода накапливается в них; ворсины становятся крупными и отечными. Это нарушает обмен эмбриона и в том числе значительно уменьшает проникновение в него аллогенных антител. И все многочисленные осложнения – от разрушения инвазивного и других видов трофобласта, моноцитов, эритробластов и сосудов, отложения фибрина и другие изменения являются следствием действия аллогенных антител через апоптоз.

Шестой этап – распространение аллогенного конфликта на тканях эмбриона. Оно может произойти в двух вариантах. Первый - проникновение большого количества аллогенных антител в эмбрион через еще мало поврежденную сосудистую систему ворсин, когда еще функционирует 40-60% нормальных капилляров. Происходит множественный апоптоз большинства формирующихся органов – нервной трубки, печени, в мезенхиме и других. Одновременно апоптоз поражает до 40-50% клеток. Разрушение эмбрионов происходит чаще на 3.5-4 неделе развития и лишь единичные, разделенные на мелкие кусочки тканей эмбрионы абортируют на 5-7 неделях. Этот вариант составляет 60% из числа обнаруженных при абортах (Рис.5.5, 5.6).

Второй вариант составляет 40%. Он происходит при проникновении умеренного количества аллогенных антител через значительно поврежденные капилляры ворсин – нормально функционируют лишь 13-36% (Таблица 5.7.). Эмбрионы представлены в виде мелких кусочков ткани. Но аллогенные антитела продолжают действовать, апоптоз разрушает клетки небольшими группами – по 13-18. Клетки, не находящиеся в апоптозе – сохранены. Иногда среди них встречаются пролиферирующие, Ki67(+) клетки (Рис.5.7). Имеются мононуклеарные фагоциты ($2-4 / 50000 \text{ мкм}^2$), они в основном (около 80%) промоноциты. Часть их содержит рецептор интерлейкина 2 (IL2R α). В обычных для СИС эпителиальных органах местами встречаются клетки, содержащие SC и J-цепь. Все это показывает частичную сохранность функций клеток, не подвергшихся апоптозу. Какие-либо патологические процессы – некроз, фиброз, обызвествление и другие, не обнаруживаются. Главная причина гибели эмбриона – разрушение путем апоптоза клеток ведущих органов – нервной трубки, печени, сердца и других. Оно бывает множественным с гибелью на 3.5-4 неделе развития или менее массовым с гибелью в последующие сроки, когда части эмбриона делятся на мелкие кусочки или распадаются полностью. Так аборт может произойти не сразу. Возраст женщины не влияет на срок развития аборта: он может произойти на 3.5-4 неделе у женщин 17-25 лет и у 44-летней.

5.9. Заключение по главе 5

Уже до начала эмбрионального периода в оболочках, а затем в самом эмбрионе широко представлены различные биологически активные системы, которые действуют для поддержания их нормального развития.

1. Секреторная иммунная система (СИС) и ее главные рецепторы – SC и J-цепь присутствуют в трофобласте, а затем в его вариантах. Они входят в состав плацентарного барьера и осуществляют обмен веществ беременной и зародыша, в том числе поставляют ему иммуноглобулины. С образованием определенных органов СИС входит в них в виде клеточных барьеров в мозговой трубке, мезодерме, эпителии и во многих других структурах. На базе СИС формируется также индивидуальная иммунная защита жизненно важных клеток и органов (глава 3.7.).
2. Фагоцитарные защитные системы также образуются на основе трофобласта: это инвазивный трофобласт и трофобласт, покрывающий лакуны с кровью беременной. Кроме образования места для бластоцисты в ткани матки, они активно фагоцитируют и разрушают патогены зародыша еще вне него, в децидуальной ткани.
3. Система мононуклеарных фагоцитов (моноциты и промоноциты) находится в тканях эмбриона, особенно в ворсинах хориона и, в меньшей степени, в самом эмбрионе. Эти клетки способны к фагоцитозу и разрушению ряда патогенов и некротизированных клеток. Все упомянутые системы транспортируют также иммуноглобулины беременной к эмбриону. Они играют значительную роль в защите его от микрофлоры и других патогенов, но могут вызвать ранний аллогенный конфликт.
4. Предшественники иммунокомпетентных клеток – лимфоцитов – появляются уже в желточном мешке, позже в печени. Они понемногу рассеиваются в других органах. При бактериальных инфекциях уже на 7-8 неделях количество лимфоцитов CD3, CD4, CD20 увеличивается в печени (глава 5.6.1.) и эндокринных железах (Таблицы 3.3. и 3.4.), возрастает количество нейтрофилов в CD20, содержащих IgM, IgA и в меньшей степени IgG. В середине второго триместра формируются органы основной иммунной системы – тимус, селезенка, лимфоузлы, и начинается синтез иммуноглобулинов плода. Конечно, в отличие от взрослого человека, плод еще не способен к иммунному распознаванию многочисленных бактериальных и прочих чужих антигенов. Но это не неполноценность иммунной системы, а ее неопытность.
5. Интерлейкин 2 (IL2R α CD25+) – фактор роста и его рецептор содержатся в нормально развивающихся эмбрионах уже к 3.5-4 неделе и в пролимфоцитах и промоноцитах (CD34+) желточного мешка, а позднее - в печени в количестве $0.1 - 2 / 50000 \mu\text{m}^2$. IL2R α содержится также в клетках многих формирующихся органов: в участках нервной трубки, в клетках эпителия желудка, кишки, трахеи и бронхов, клетках гонадных валиков, мезонефрос и метанефрос, закладках поджелудочной железы и других органов. В случаях бактериальных инфекций (группы 3А и 3В) и при аллогенном конфликте (группа 4) количество IL2R α в печени возрастает до $6.75 \pm 1.22 / 50000 \mu\text{m}^2$, более значительно в группе 3В (тяжелый гематогенный процесс). В группе 4 IL2R α содержится в участках органов, где менее широко распространен множественный апоптоз – в частях нервной трубки, миокарде, в капиллярах и в других формирующихся

органах. Наличие IL2R α не только в пролимфоцитах и промоноцитах, но главным образом в паренхиматозных клетках формирующихся органов указывает на важность его участия в этом процессе.

6. Пролиферация клеток определяется реакцией Ki67. Она выявляет активные стадии деления (G1, S, M, G2, но не G0). В нормальном состоянии (группа 1) наиболее часты клетки Ki67(+) в желточном мешке, после 4 недели развития – в печени, а также в гонадных валиках. В них количество Ki67(+) клеток колеблется от 7.33 ± 0.93 до 32.87 ± 4.19 /50000 μm^2 . При патологических процессах пролиферативность клеток эмбрионов меняется по-разному. В группе 3А Ki67(+) возрастает в упомянутых трех органах. В группе 3В она уменьшается в несколько раз в зонах воспаления, а в других участках и с большей длительностью процесса, как в группе 1. В группе 4, в «зоне наибольшего действия аллогенных иммуноглобулинов – в плацентарном барьере», количество пролиферирующих клеток на 3.5 - 6 неделях развития уменьшается в 6 – 9 раз, а на 7 – 8 неделях – лишь вдвое по сравнению с группой 1. В желточном мешке количество Ki67(+) клеток возрастает.
7. Физиологический апоптоз играет важную роль в формировании органов эмбриона. Разрушение бывших структур, подготовку места и строения будущего органа апоптоз выполняет быстро, за несколько часов. Поэтому клетки в состоянии апоптоза располагаются поодиночке или мелкими группами (1.52 ± 0.04 /50000 μm^2). В случаях группы 3А, в которых микрофлора распространяется в тканях эмбриона, имеются компоненты СИС – SC, J-цепь и иммуноглобулины, ослабляющие микрофлору. Совместные действия СИС, мононуклеарных фагоцитов и положительных функций других регулирующих систем (глава 5.6.1) не допускают развития множественного апоптоза и предотвращают патологические изменения. Но совместные процессы, значительные в децидуальной ткани и минимальные в эмбрионе, вызывают аборт.

В случаях группы 3В микрофлора проникает к эмбриону гематогенным путем через основные пути обмена в обход СИС. Подавление биологических систем, в том числе мононуклеарных фагоцитов, инвазивного трофобласта и других, вызывают тяжелые разрушения ворсин и тканей эмбриона несколькими видами некроза, в том числе значительным апоптозом. Так завершается развитие эмбриона.

8. Изменения, вызванные ранним аллогенным конфликтом в тканях эмбриона, его оболочках и децидуальной ткани беременной (группа 4) по сравнению с нормальным состоянием (группа 1) и бактериальными процессами (группы 3А и 3В) существенно различаются в характере патологических процессов и их следствия. В децидуальной ткани во всех исследованных группах имеется значительное количество лимфоцитов, участвующих в клеточных иммунных реакциях. Это Т-лимфоциты (CD3), Т-супрессоры (цитотоксические CD8) и натуральные киллеры (NK CD56). Во всех исследованных группах их показатели существенно не различаются (Таблицы 4.6., 4.7.) и, следовательно, клеточная иммунная реакция в них не происходит. В гуморальной иммунной реакции участвуют В-лимфоциты (CD20) и плазматические клетки. В группах 3А, 3В и 4 в децидуальной ткани имеются существенные отличия от группы 1: они умеренные в группе 3А, значительные в группах 3В и 4 (Таблицы 4.6., 4.7., 5.6.), что свидетельствует о тяжелых патогенных воздействиях на

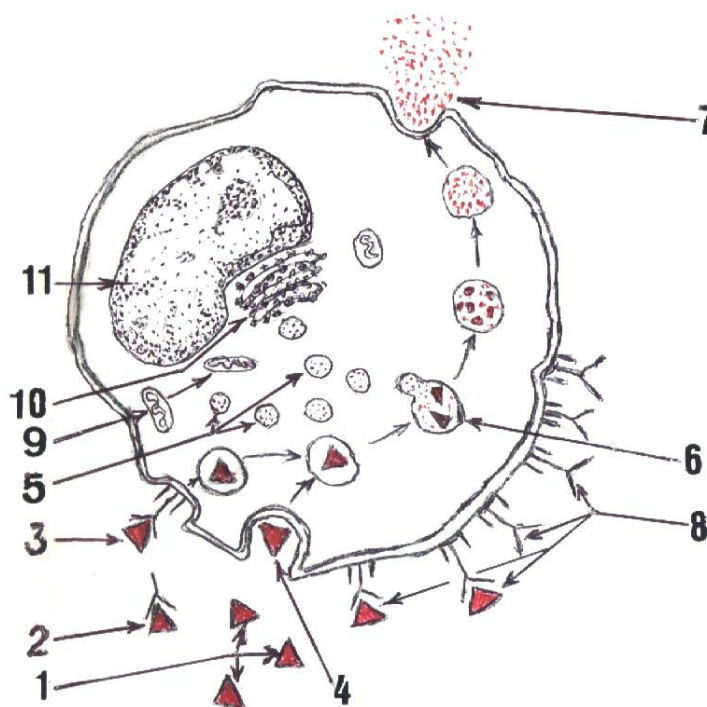
беременную. Аналогичны состояния мононуклеарных фагоцитов ворсин эмбриона (Таблица 4.5.): в группе 3А количество их возрастает вдвое, что свидетельствует о значительном иммунном ответе. А в группе 3В и 4 количество фагоцитов имеет тенденцию к снижению, несмотря на многократное увеличение промоноцитов. Это признаки недостаточной реакции фагоцитов эмбрионов в группах 3В и 4 на тяжелые патогенные воздействия. Эти выводы подтверждаются достоверным падением количества пролиферирующих (Ki67+) фагоцитов и содержанием в них интерлейкина 2 (IL2R α).

Так иммуногистохимические, морфометрические и патоморфологические исследования дают основания для анализа течения беременности, развития эмбрионов и возникновения нарушений в них.

Глава 6. Механизмы иммунной защиты преэмбрионального и эмбрионального периодов

Иммунной защите нового организма в первые два месяца его развития уделяется мало внимания. А между тем в организме беременной преэмбрионы и эмбрионы подвергаются различным опасностям – бактериальным и вирусным инфекциям, интоксикациям и аллогенным конфликтам. В эти периоды последовательно включаются пять механизмов, обеспечивающих непрерывную защиту зародыша.

Рис.6.1. Этапы функций мононуклеарных фагоцитов



1 - антигены, 2 - соединение антигена с иммуноглобулином (первый способ поглощения антигена), 3 - фиксация антигена с иммуноглобулином в рецепторе (Fc gamma RIIIa, RII, RI или другие), 4 - фагоцитоз антигена без иммуноглобулина (второй способ поглощения антигена), 5 - лизосомы, 6 - фаголизосома с антигеном, разрушение антигена, 7 - отторжение разрушенного содержимого фаголизосом, 8 - рецепторы и иммуноглобулины с антигенами без их разрушения, 9 - митохондрии (энергообеспечение фагоцита), 10 - комплекс Гольджи (образование лизосом и др.), 11 - ядро фагоцита. (В.Г.Галактионов, 1986, с изменениями и дополнениями)

Защита будущего человека начинается с его создания. В яичнике яйцеклетка окружена небольшими фолликулярными клетками, входящими в лучистый венчик (corona radiata). Эти клетки происходят из мезотелия гонадных валиков и содержат,

как и сам мезотелий, компоненты СИС – SC, J-цепь и иммуноглобулины. Своими отростками они проникают к яйцеклеткам и обеспечивают им обмен веществ, а элементы СИС снабжают их иммуноглобулинами, обеспечивая им иммунную защиту. Когда у взрослой женщины яйцеклетка достигает половой зрелости и выделяется из яичника, ее сопровождает часть фолликулярных клеток (Pereda et.al.,1985; 1995; Metta et al., 1995; Greenenbaum E, 1998; Hargreave T.B., Mills J.A. 1998). Их СИС снабжает цитоплазму яйцеклетки J-цепью и иммуноглобулинами от матери. В случае оплодотворения зигота получает готовую иммунную защиту от бактерий и других патогенов при условии, что беременная уже ранее контактировала с ними, и у нее имеются соответствующие антитела для быстрого ответа (Рис.6.1). Если же этот патоген новый, то зародыш может погибнуть прежде, чем беременная успеет подготовить нужную защиту. Имеется и другая опасность – аллогенный конфликт. Ведь половина генов зародыша от отца, и, если среди них есть несовместимые с антигенами матери, при повторных беременностях гибель зародыша произойдет даже до имплантации его в децидуальную ткань – на первой неделе (Wilcox A.J. et al.,1988; Kuttah W.H., 1999; Кулаков В.И.и др., 2005; Adolfsson A, Larsson P.G., 2006).

Этот механизм является **первым этапом защиты**. Он целиком от беременной: ее фолликулярные клетки с ее же СИС и иммуноглобулинами, поэтому он прекращает функционировать с отторжением фолликулярных клеток – через 4-6 дней после оплодотворения.

Второй этап защиты наступает одновременно с прекращением первого. Когда морула превращается в бластоцисту, фолликулярные клетки и *membrane fertilizata* (оболочка оплодотворения) разрушаются. Их место занимают плотно соединенные между собой клетки трофобласта – часть самого зародыша. Главной задачей трофобласта на этом этапе является создание ложа в децидуальной ткани для презембриона и лакун для крови беременной. Для этого он обладает значительной способностью к фагоцитозу и разрушению децидуальной ткани. Трофобласт содержит SC и J-цепь, являясь, таким образом, частью обоих видов (слизистых и барьерных) СИС, и может захватывать и транспортировать иммуноглобулины беременной в клетки бластоцисты. Так начинает функционировать собственный механизм защиты презембриона, но с участием иммуноглобулинов беременной – «пассивный иммунитет» (E.Jauniaux et.al.,1995). По нашим данным (Глава 4.7) трофобласт более активен, чем моноциты в выборе – своего или чужого. Он способен к захвату и разрушению аллогенных антител беременной, особенно при раннем аллогенном конфликте, когда он фагоцитирует аллогенные антитела в 4 раза более активно, чем в группе 1, или чем макрофаги беременной в группе 4 (на 8-64%) (Диаграмма 4.2., Табл.4.9). В эмбриональном периоде очень активны в этом отношении инвазивный трофобласт, пронизывающий децидуальную ткань беременной, трофобласт покрывающий лакуны и синцитиотрофобласт ворсин. Все они контактируют с тканью и кровью беременной, и сами гибнут при разрушении фагоцитированных аллогенных иммуноглобулинов. Эта их гибель скрывает особую фагоцитарную активность инвазивного трофобласта. В случаях бактериальной инфекции группы 3В его клетки проникают глубоко в некротическую массу и создают дополнительный вал (Рис.6.2.). Это создает впечатление о большей фагоцитарной активности инвазивного трофобласта, чем макрофаги децидуальной ткани и фагоциты эмбриона. Жизнеспособность и активность инвазивного и пролиферативного видов трофобласта проявляется в интенсивности их размножения, когда 71-76% их клеток Ki67 положительны (см.

Табл.4.4). Мы не останавливаемся на важной функции трофобласта по образованию гнезда для зародыша и лакун для функционирования плацентарного

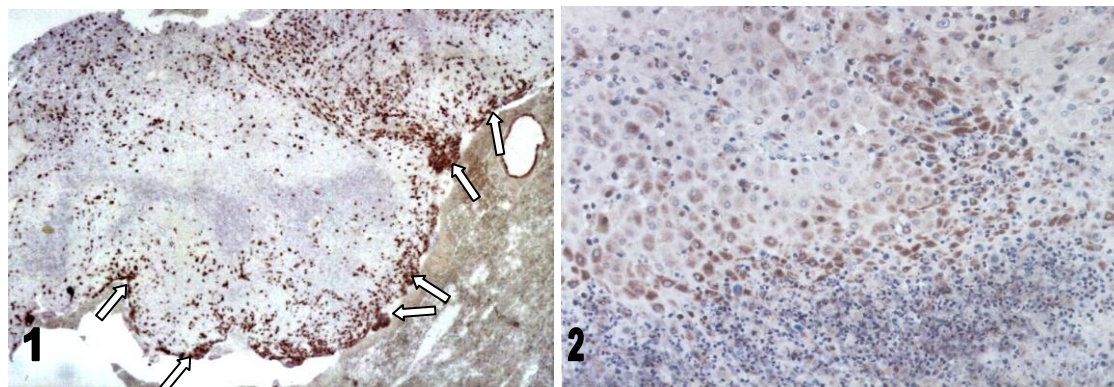


Рис.6.2. 5 недель развития. Группа 3В. 1 – децидуальная ткань с участком некроза, окруженным валом из различных лейкоцитов. Особенно заметен инвазивный трофобласт (реакция AE1 – AE3+), он не только окружает некроз, но проникает в него. Повышенное количество пролиферативного трофобласта прибывает от «якорных ворсин» (стрелки), которые внедряются в некротизированную ткань. Увеличение x40. 2 – то же место. Реакция трофобласта SC+ проказывает проникновение инвазивного трофобласта вглубь некроза. Увеличение x200.

барьера. Но снабжение зародыша иммуноглобулинами беременной против инфекций и других патогенов, фагоцитоз и разрушение аллогенных антител являются не менее важными функциями трофобласта. Так закладывается секреторная иммунная система, которая окажется столь важной в развитии, иммунной защите и в самом существовании не только преэмбриона, эмбриона и плода, но и человека на протяжении всей его жизни.

Третий этап защиты осуществляют мононуклеарные фагоциты. Свои функции они выполняют в самом преэмбрионе, эмбрионе, плоде и их оболочках. Они не выходят за их границы, как это делают виды трофобласта: особенно инвазивный, находящийся между децидуальными клетками беременной, трофобласт выстилающий лакуны с ее кровью, и синцитиотрофобласт. Значительная часть мононуклеарных фагоцитов располагается в ворсинах хориона, на эмбриональной (и фетальной) части плацентарного барьера. В органах и тканях эмбрионов их меньше (Таблица 5.5). Комплекс этих клеток состоит из миеломоноцитарных стволовых клеток, промоноцитов и моноцитов. Моноциты иногда именуют макрофагами Кашенко-Ноббауэра, однако они моложе макрофагов. Различить моноциты и макрофаги не сложно. На препаратах плаценты, обработанных CD68 и CD14 в децидуальной ткани видны крупные, интенсивно окрашенные тем или другим CD клетки – это макрофаги беременной. В ворсинах хориона видны CD68(+) и CD14(+), но несколько слабее – это моноциты. И там же CD68(-) и CD14(+) – это промоноциты (Рис.5.7.1). Миеломоноцитарные стволовые клетки можно видеть в желточном мешке. При тяжелых поражениях с массовым разрушением моноцитов (инфекция группы 3В и аллогенный конфликт группы 4) они поодиночке появляются в крови сердца среди эритробластов при обработке CD34.

Моноциты и промоноциты обладают многими способностями. Они фагоцитируют и разрушают патогены (Таблица 4.9., рис. 6.1.); пролиферируют промоноциты и моноциты не только в желточном мешке, а затем в печени, но и в тканях, особенно в зоне плацентарного барьера (Таблица 4.5.); транспортируют

иммуноглобулины в кровеносных сосудах эмбрионов (Таблица 5.3). Они обладают рядом активных веществ и рецепторов, выполняющих различные функции: IgG – Fc gamma RIII α (CD16), RII (CD32) и RI (CD64), интерлейкина 2 (IL2R α - CD25)), пролиферирующие клетки (Ki67+), J-цепь и другие. Моноциты и промоноциты активно приспосабливаются к изменениям ситуации, в том числе – возникновению патологических процессов (Таблица 5.8).

При транспорте иммуноглобулинов возможны два варианта захвата их или других белков (см. Рис.6.1). Первый вариант – с участием рецепторов Fc gamma RIII α , RII и RI. Они захватывают иммуноглобулины за их Fc фрагмент, а оба Fab-фрагмента остаются свободными. Такой комплекс на моноцитах или промоноцитах разносится по эмбриону, нейтрализуя соответствующие патологические антигены. Второй вариант захвата – без участия иммуноглобулинов - фагоцитоз с образованием в цитоплазме фаголизосом, в которых патогены разрушаются. Особенно эффективен этот вид фагоцитоза в случаях аллогенного конфликта, когда захватывается и разрушается огромное количество IgG, IgA и IgM (см. Табл.4.9).

При интенсивном воздействии патогенов (микрофлоры или иммуноглобулинов при аллогенном конфликте - см. раздел 4.6 и 4.7) и гибели значительной части моноцитов резко увеличивается производство промоноцитов. Их количество увеличивается с 2% до 80-100% из количества моноцитарных фагоцитов, в среднем $54.17 \pm 3.61\%$. Количество фагоцитов в группе 1 (контроль) и

Таблица 6.1. Биологически активные вещества и рецепторы, содержащиеся в моноцитах и промоноцитах эмбрионов (в процентах к общему числу моноцитов или промоноцитов)

	CD68	CD14	CD16	CD32	CD25	Ki67
Моноциты	+	+	70.09 ± 4.35	82.48 ± 1.35	57.54 ± 2.78	13.16 ± 1.67
Промоноциты	-	+	12.06 ± 2.11^a	10.55 ± 2.15^a	12.45 ± 1.57^a	7.48 ± 1.21^b

^a - в промоноцитах содержание CD16, CD32, CD25 достоверно меньше, чем в моноцитах ($p < 0,001$)

^b - в промоноцитах Ki67 достоверно меньше, чем в моноцитах ($p < 0.02$)

группах 3В и 4 (при тяжелом патогенном воздействии) остается одинаковым, а в группе 3А даже вдвое увеличивается (Табл.4.5). Это свидетельствует о мощных средствах защиты; и это в начале эмбрионального периода, когда величина зародыша составляет 1-5 мм, а общая иммунная система еще отсутствует. По изменению количества и состава клеток можно оценить происходящие процессы даже у эмбрионов 3.5 – 5 недель. Например, неизменное число моноцитов и промоноцитов (в количестве на площади $50000 \mu m^2$ слайда или процента их соотношения – Таблица 4.5, группы 1 и 2) означает нормальное состояние. Повышение числа моноцитов и промоноцитов (группа 3А) характерно для компенсированных воспалительных или иммунных процессов. А увеличение промоноцитов при равном (группа 3В) или тем более уменьшенном количестве моноцитов (группа 4) показывают недостаточность или даже декомпенсацию процессов. Последняя ситуация может рассматриваться как эмбриональный аналог сепсиса.

Четвертый этап иммунной защиты формируется по мере органогенеза у эмбрионов, а затем плодов. Это индивидуальная иммунная система жизненно важных клеток и органов, таких как развивающиеся нейроны мозга и ганглиев, паренхиматозные клетки главных эндокринных желез, миокард, гепатоциты,

мужские и женские гаметы (Глава 3). Особенностью этих клеток и органов является отсутствие или незначительность регенерации: после повреждения и разрушения они не восстанавливаются или восстанавливаются слабо. Заключается этот механизм в накоплении большого количества иммуноглобулинов в цитоплазме клеток. Рецептором при этом является J цепь. При появлении патогенов вокруг упомянутых клеток их иммуноглобулины не расходуются, ими защищаются сами паренхиматозные клетки, а окружающие клетки защищают СИС и общая иммунная система, когда она сформируется. Сначала иммуноглобулины поступают от беременной, а затем, когда устанавливается синтез иммуноглобулинов плода, добавляются и они. При развитии раннего аллогенного конфликта в эмбриональном периоде, когда индивидуальная иммунная система еще не сформировалась, действие аллогенных антител вызывает значительное разрушение нейробластов.

Пятый этап – общая иммунная защита. Она является ведущей и объединяет уже действующие механизмы иммунной защиты, дополняет их важнейшими новыми структурами – клеточной и гуморальной иммунными системами, иммунокомпетентными клетками и иммунными органами. Первые весточки – иммунокомпетентные клетки проТ-лимфоциты (CD3+) и проВ-лимфоциты (CD20+) появляются в желточном мешке, а на 5 - 6 неделе - в печени. Она постепенно становится ведущим кроветворным и иммунным органом, а желточный мешок перестает функционировать. Понемногу лимфоциты рассеиваются по органам. На 7 – 8 неделях при бактериальных инфекциях в печени их количество значительно увеличивается, а в цитоплазме В-лимфоцитов появляются иммуоглобулины.

Тимус образуется из эпителия 3 и 4 пар жаберных каналов (см. Рис.5.2.1.). К 8 неделе образуется корковый слой – эпителиальный. Его клетки содержат SC, J-цепь и иммуноглобулины. Затем этот слой превращается в тельца Hassall, они обладают эндокринными функциями, синтезируют тимозины и тимопоэтин (Хлыстова З.С., 2006). На 8 неделе мозговая зона заселяется Т-лимфоцитами и небольшим количеством В-клеток. В тимусе Т-лимфоциты дифференцируются в CD4+ хелперы и CD8+ цитотоксические лимфоциты, которые затем распространяются по всему организму.

Селезенка закладывается на 4 неделе, на 11-12 неделях лимфоциты заселяют ее, а с 13-14 недель развития образуются лимфоидные фолликулы. Преобладают в селезенке В-лимфоциты.

Лимфоузлы начинают развиваться в конце первого триместра, во втором триместре их количество нарастает. Они располагаются главным образом в местах разветвления лимфоидных сосудов – на шее, в подмышечной и паховой областях, в средостении и в брюшной полости.

Скопления лимфоцитов в виде лимфоидных фолликулов располагаются по желудочно-кишечному, воздухоносному и мочеполовым путям. Они могут образовывать скопления в виде миндалин в полости рта и глотки, бляшках Peyer в подвздошной кишке и аппендиксе. Эти скопления, а также часть мелких фолликулов, относятся к СИС. Они обеспечивают синтез иммуноглобулинов, главным образом IgA, для выделения их в полостях упомянутых органов, а также слезных желез глаз, молочных желез и др. Все они начинают формироваться на 8-9 неделях, затем во втором и третьем триместрах бурно развиваются, а после рождения функционируют и перестраиваются по потребности.

Со второй половины фетального периода важным гематогенным и иммунным органом становится красный костный мозг, а печень полностью теряет эти функции (Рябчиков О.П. и др., 2006). В костном мозгу производятся

эритроциты, гранулоциты (нейтрофилы, эозинофилы, базофилы), мегакариоциты и тромбоциты, мононуклеарные фагоциты и лимфоциты. Отсюда они рассеиваются по всему организму.

Заключение

С момента оплодотворения, когда начинается жизнь нового организма, пока еще в виде одной или нескольких клеток, его иммунную защиту в течение 4-6 дней осуществляют компоненты СИС его будущей матери – фолликулярные клетки, защищавшие яйцеклетку, и ее же иммуноглобулины. Эта защита рассчитана на внешние патогены – микрофлору и другие патогены. Но при возможном раннем аллогенном конфликте преэмбрион остается беззащитным. Это первый этап защиты зародыша.

Второй этап защиты начиная с 4-5 дня образуется из клеток самого преэмбриона – бластоциты. Это трофобласт, который располагается вне его. Кроме главной задачи – имплантации зародыша в децидуальную ткань, трофобласт – активный фагоцит, он обладает SC и J-цепью и является частью будущей СИС, используя иммуноглобулины беременной. Таким образом, уже на ранних этапах развития зародыша формируют собственные системы защиты – трофобласт, а затем мононуклеарные фагоциты. При раннем аллогенном конфликте трофобласт интенсивно фагоцитирует и разрушает иммуноглобулины и другие патогены, направленные против преэмбриона (Глава 4.7., Диаграмма 4.2., Табл.4.9).

Третий этап защиты – это мононуклеарные фагоциты – моноциты и промоноциты. Они образуются в желточном мешке, начиная со второй до седьмой недели развития, а с пятой недели в основном, в печени, но и в зоне плацентарного барьера. Их главная задача – защита растущего эмбриона: находясь внутри его, путем фагоцитоза и разрушения патогенов. Тем самым они дополняют защитные функции трофобласта. При аллогенном конфликте мононуклеарные фагоциты, как и трофобласт, фагоцитируют и разрушают иммуноглобулины беременной, направленные против эмбриона.

Четвертый этап защиты формируется в процессе органогенеза в эмбрионе и в плоде в первом и во втором триместрах. Это индивидуальная защита особо важных клеток и тканей, не обладающих регенерацией или обладающих в малой степени. Это нейроны ядер мозга и ганглиев, паренхиматозные клетки главных эндокринных желез, миокард, гепатоциты и гаметы. Сущность защиты состоит в накоплении иммуноглобулинов в цитоплазме этих клеток.

Пятый этап – формирование системы иммунной защиты организма, закладывается в эмбриональном и начале фетального периода с образования особых клеток и органов. Мононуклеарные фагоциты в дополнение к функции фагоцитоза становятся антиген-представляющими клетками. Они распознают патогенные антигены, оповещают и с участием биологически активных веществ стимулируют мероприятия по их нейтрализации. Имунокомпетентные клетки различных видов выполняют иммунные реакции в соответствии с полученной информацией – клеточные или гуморальные. Клеточные выполняют несколько видов Т-лимфоцитов и НК, гуморальные реакции выполняют клетки, синтезирующие иммуноглобулины – В-лимфоциты, а после рождения к ним добавляются плазматические клетки. Предшественники иммунокомпетентных клеток заселяют ранее созданные основы – костный мозг, тимус, селезенку, образуют лимфоузлы и другие комплексы антиген-представляющих и иммунокомпетентных клеток. Начинается синтез собственных иммуноглобулинов, но плод продолжает

пользоваться также и иммуноглобулинами беременной, и только после рождения ребенок постепенно освобождается от материнских иммуноглобулинов, поступающих с молоком.

Иногда встречаются представления о низкой способности самозащиты плода. Это неверное мнение. Механизмы защиты последовательно усложняются уже с зиготы. Но патогенные воздействия для плода и тем более для презембриона и эмбриона действуют в первый раз и быстро. В наших исследованиях развитие общей иммунной системы и, в частности, ее гуморальной части, рассматривается в случаях без патологических влияний (группа 1), при воспалительных процессах – легких и тяжелых (группы 3А и 3В) и иммунной реакции при раннем аллогенном конфликте (несколько вариантов группы 4). В каждом случае четко выступали иммунные реакции, соответствующие характеру заболевания. Соответствовали также действия мононуклеарных фагоцитов, различные варианты трофобласта, реакции $IL2R\alpha$, пролиферация клеток, интенсивная степени апоптоза и т.д. Все это изложено в главе 5.9. В главе 7.7 рассматривается отечная форма гемолитической болезни плода. Она продолжается месяцы во внутриутробном конфликте. И приспособления к сохранению жизни в создавшихся условиях бывают удивительные. Но жизнь в иных условиях после рождения уже невозможна, и новорожденный гибнет.

После рождения общая иммунная система защищает весь организм ребенка и взрослого человека в контакте с системами, функционировавшими еще в течение внутриутробного развития – в презембриональном, эмбриональном и фетальном периодах. Начав образовываться еще в первые дни развития зародыша, иммунная система и ее части в дальнейшем совершенствуются в течение всей жизни человека.

Глава 7. Поздний аллогенный конфликт – гемолитическая болезнь плода и новорожденного

Гемолитическая болезнь плода и новорожденного (ГБПН) – проявление иммунного конфликта между беременной и ее плодом во второй половине беременности. Причиной конфликта является несовместимость антигенов, унаследованных от отца, содержащихся в эритроцитах и клетках некоторых органов плода. Иммунная система беременной вырабатывает антитела против этих антигенов. При проникновении антител в организм плода у него разрушаются эритроциты и ткани некоторых органов, возникает гемолитическая анемия с различными осложнениями.

7.1. Краткая история изучения ГБПН

Желтуха новорожденных известна еще с древности. Первые серьезные попытки узнать ее причину были предприняты во второй половине XVIII века, когда королевская хирургическая академия в Париже предложила «описать желтуху новорожденных и выяснить, в каких случаях нужно предпринять против нее различные врачебные меры, а когда можно - предоставить ее силам природы» (цит. по С.Б.Вермель, 1898). Первые случаи отечных недоношенных детей были описаны F.Platter (1614), Darstenius (1684), F.Oslander (1796). Детально описал отечную форму H.Schridde (1910). Поражение мозга (ядерная желтуха) описано J.Orht (1875), М.Рунге (1888), G.Schmorl (1904). L.Diamond, K.Blackfan, J.Baty (1932) показали, что тяжелая желтуха, отек и анемия представляют три варианта одного заболевания. Четвертую форму – рождение мацерированного ребенка без отеков и желтухи – описали Ph.Levine et al (1941).

Причины возникновения ГБПН долгое время оставались неясными. С.Б.Вермель (1898) отмечает, что каждый автор, изучающий этот вопрос, выдвигает новую теорию. Первые рациональные идеи выдвинули L.Hirszfeld и H.Zborovsky (1926). Они предположили, что при разных группах крови в эритроцитах плода и матери у нее должны образовываться антитела против эритроцитов плода.

Ph.Levine и E.Stetson (1939) описали клинический случай: у 25-летней роженицы, у которой погиб новорожденный, возникли осложнения, потребовавшие переливания крови. Ей перелили кровь мужа, в течение переливания произошла атипичная реакция, отчетливо связанная с несовместимостью их крови. Однако, несовместимости по известным тогда факторам А, В, О, М, N, Р у них не оказалось. Авторы статьи предположили, что женщина была иммунизирована неизвестным фактором плода, унаследованным от отца. Уже в 1940 году K.Landsteiner и A.Wiener открыли этот фактор – сначала в эритроцитах обезьян *macacus rhesus*, а затем в эритроцитах европейцев. Ранее упомянутые женщина и ее муж были вновь обследованы: ее эритроциты не содержали резус-фактор, а у мужа

он присутствовал. Так было открыто происхождение ГБПН в статье Ph.Levine с соавторами в 1941 году. Термин «гемолитическая болезнь новорожденного» впервые был применен A.Wiener (1946).

7.2. Эпидемиология

В дальнейшем были выявлены варианты резус-фактора: С, D, Е, с, d, е. Оказалось, что конфликт в 90-93% случаев ГБПН вызывает фактор D, факторы С и Е вызывают конфликт редко, а с, d, е – очень редко (Mc Adams R.M., et al., 2008). Название «резус-положительный антиген» сохранилось за Rh⁰D, кровь не содержащая его называется резус-отрицательной, хотя другие резус-факторы в ней могут быть. Несовместимость крови беременной и плода по другим антигенам крови (А, В, О) обуславливают ГБПН., в основном при группе О(І) у беременной и А(ІІ) у плода. Течение желтушной формы ГБПН в этих случаях гораздо более легкое, чем при Rh⁰D конфликте: хотя А, В, О несовместимость наблюдается у 20-25% женщин и их мужей, но лабораторные признаки имеются у 2-2.5%, а требующие лечебного вмешательства – лишь у 0.1% беременных. Отечная и другие формы ГБПН по этим антигенам не встречаются, конфликты по другим факторам крови у плодов казуистичны. Известны более 14 систем антигенов кроме Rh-Hr и ABO: MNSs, Lutheran (Lu), Kell (K), Lewis (Le), Daffy (Dy), Kidd (Jk), Diego (Di), Sutter (Js) и другие. Из-за несовместимости по гену KEL1 и наличия антител К в Польше была выявлена ГБПН в 6 случаях, один из них летальный (Zupanska B., et al., 2008). Редкие случаи ГБПН связаны с наличием на оболочках эритроцитов антигена Gerbich-3 (Ga-3). При нем развивается гипербилирубинемия и тяжелая анемия (Blackall D.P. et al., 2008).

Распространение положительного резус-фактора у жителей различных континентов разное. У европейцев, в том числе русских и европейских американцев, резус-положительные - 85%, отрицательные – 15%. Поэтому частота ГБПН у них выше, например, в России 1.5% всех родов завершается резус-конфликтом. В Китае, Японии, у американских индейцев резус-положительны 99%, у афроамериканцев – 93% и, следовательно, резус-конфликт в родах у них очень редок. В Африке (Зимбабве) из 23493 родившихся детей ГБПН выявлена у 191 ребенка (0.85%). Наиболее частой причиной болезни были антигены АВ, гораздо реже – антигены D и единичные – антиген Kell (Mandisodza A.R. et al., 2008). Следует отметить, что авторы не учли случаи мертворождения – преждевременного и в срок. В Африке обнаружены анти-hrB и анти-HrB антитела, которые вызывают ГБПН и реакции при гемотрансфузиях (Win N., Needs M., Tillyer L. 2007). В Корее отмечен тяжелый случай ГБН при сочетании у ребенка Di (a+ b+), а у матери Di (a+ b-) (Oh E.J. et al., 2008). В Голландии исследован случай ГБН вследствие антигена Vel с тяжелой желтухой, потребовавшей фототерапию (von Gammern A.J. et al., 2008).

Кроме эритроцитов резус-фактор содержится в тканях печени, почек, селезенки, поджелудочной железы, надпочечников и в некоторых других органах (П.Н.Косяков, 1975). Это расположение имеет особое значение для хирургии: перед трансплантацией органа обязательна проверка возможности аллогенного конфликта. В трофобласте и, в частности, в инвазивном трофобласте зародыша резус-антиген не содержится.

7.3. Резус-антигенный конфликт: общие проблемы

К настоящему времени разработаны методы диагностики и лечения ГБПН, смертность при ней сокращается. Однако, открываются новые варианты аллогенных конфликтов и в том числе ранние аллогенные конфликты. Многие стороны их патогенеза, диагностики, профилактики и лечения остаются неясными. Наиболее важен в настоящее время ранний аллогенный конфликт, который начинается в доэмбриональном периоде и в полной картине развертывается у эмбрионов 3.5 – 8 недель развития. При повторной беременности, когда соответствующие антитела уже имеются у беременной, аллогенный конфликт может развиваться в конце первой – второй недели после оплодотворения. Ранний конфликт распространен: он составляет около 50% случаев раннего самопроизвольного аборта.

Цель данной главы заключается в описании наших исследований различных клинических форм позднего аллогенного конфликта и сравнение их с ранним конфликтом в эмбриональном периоде. Мы намеренно рассматриваем материалы сорокалетней давности: они находятся, так сказать, в естественном виде, без изменений, вызванных современными успешными лечебными мероприятиями. Эти материалы дополнены новыми данными и методами, которые включены в последующие разделы главы 7.

7.3.1. Анамнез и течение беременности

Наблюдались 98 женщин (Таблица 7.1.). Из них у 92 конфликт был по Rh⁰ D-антигену (93.88%), в двух случаях (2.04%) конфликт был по вариантам резус-фактора, которые мы в то время не могли выявить, и 4 случая (4.08%) конфликта по АВО группам крови. В этих 4 случаях кровь трех женщин была О(І) группы и у одной – В(ІІІ) группы. Кровь двух детей были В(ІІІ) группы и двух – А(ІІ) группы. У этих шести детей развилась желтушная форма ГБН. Среди женщин с резус-конфликтом 20 были иммунизированы при переливании крови (21.74%), 72 (78.26%) во время беременности.

Таблица 7.1. Возраст иммунизированных женщин

До 20 лет	21-30 лет	31-40 лет	41-44 лет	Всего
1	48	44	5	98

Большинство женщин мы наблюдали длительное время и исследовали у каждой несколько беременностей и рождений детей. В основном женщины были здоровы: более или менее значительные предшествующие заболевания отмечены только у 8 женщин: ревмокардит – 3, по одной: гипертоническая болезнь, пиелонефрит, эпилепсия, ранее перенесенные гепатит, токсоплазмоз. Таким образом, какой-либо связи Rh⁰D иммунизации с другими заболеваниями женщин не отмечается.

Всего у женщин было 314 беременностей – не считая 184 искусственных абортов и 73 случаев, в которых финал беременности был неизвестен (Таблица 7.2.). У 12 женщин беременностей было более 10, у двух – 20 и 26. Родились здоровыми, без признаков ГБПН 84 ребенка (26.75%), в том числе 55 из них родились при первой беременности. При последующих беременностях число здоровых родившихся уменьшалось и после пятой беременности они больше не наблюдались (Диаграмма 7.1.). Из 230 иммуноконфликтных беременностей родились мертвыми

108 (46.95%), умерли после рождения от ГБН 112 (48.7%), живыми перенесли ГБН 10 (4.35%).

При резус-конфликте общая группа крови матери и ребенка были одинаковы в 81.25%, в том числе O(I), A(II), B(III) группы были по 21.7 – 30.4% и AB(IV) группа 4.35%.

Таблица 7.2. Исходы беременности у иммунизированных женщин в зависимости от числа плодов

		Порядковый номер беременности										Всего	% ГБН	Общий %
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10-26			
Погибшие от ГБН	Желтушная форма	12	15	18	9	18	8	8	5	2	6	101	43.91	32.17
	Отечная форма	2	3	3	10	11	8	5	5	4	8	59	25.65	18.73
	Анемическая форма	1	2	3	2	3	1	1	-	-	-	13	5.65	4.14
	Фетопатия с мацерацией	2	8	12	6	4	6	3	4	-	2	47	20.44	14.97
Живые дети, перенесшие ГБН		-	2	2	3	1	1	1	-	-	-	10	4.35	3.18
Всего ГБН		17	30	38	30	37	24	18	14	6	16	230	100	73.25
Живые и здоровые дети		55	16	9	3	1	-	-	-	-	-	84	-	26.75
Всего		72	46	47	33	38	24	18	14	6	16	314	-	100

7.3.2. Этапы развития ГБН

Хотя, в общем, развитие раннего аллогенного конфликта эмбриона и беременной аналогичны этапам позднего аллогенного конфликта плода или новорожденного с матерью (ГБН), они существенно различаются.

1 этап - иммунизация. Антигены эритроцитов плода, вызывающие ГБН, не находятся на его поверхности и не контактируют с материнскими антигенпредставляющими макрофагами. Контакты возможны во время рождения плода, при операциях, переливаниях крови или трансплантации тканей без соответствующего обследования и в других чрезвычайных ситуациях. Поэтому иммунизация матери нередко не происходит при первых (до пяти) беременностях.

2 и 3 этапы - передача антигена макрофагами к В-лимфоцитам (CD20) и хелперам (CD4), и процесс синтеза антител происходит обычно в 2 – 2.5 недели или раньше при повторных беременностях.

4 и 5 этапы – транспорт аллогенных антител от беременной к плоду и их действие. При раннем аллогенном конфликте этот транспорт проходит малое расстояние от децидуальной ткани через плацентарный барьер к эмбриону. Однако, его количество сокращается фагоцитами – инвазивным трофобластом в децидуальной ткани и моноцитами в ворсинах. Они сами гибнут при этом, и проход аллогенных тканей не прекращается. Транспорт через плацентарный барьер антимикробных и прочих антител осуществляется у эмбрионов достаточно свободно – рецепторами SC, J-цепь, FcRI (CD64), FcRII (CD32), FcRIII (CD16) и рядом других. При ГБН – позднем аллогенном конфликте - передача аллогенных антител более сложная. Она совершенно не проходит раньше 22 недель развития, когда обычные, например антимикробные антитела, свободно проходят через плацентарный барьер. В последующие сроки беременности при ГБН передача аллогенных антител происходит только в редких случаях, часто лишь во время

происходящего очередного срока рождения. Остаются неясными два фактора в ГБПН: почему аллогенные антитела не проходят свободно к плоду первые 22 недели беременности, и какие факторы вызывают прохождение аллогенных антител в последующие сроки – иногда внезапно и кратко или длительно – месяцы, или только во время рождения.

При поздних аллогенных конфликтах антигены расположены в глубине плода – на эритроцитах в клетках печени или других органов. Поэтому распознавание их – сложный процесс. При родах, когда разрушаются ворсины хориона и их сосуды, кровь плода может в какой-то степени смешаться с кровью матери, иногда в достаточном количестве, но, возможно, и в незначительном для иммунизации. Подобные случаи приведены в диаграмме 7.1, когда здоровые дети рождаются при первой, второй, третьей, четвертой, пятой очередных беременностях. Количество подобных ситуаций постепенно снижается – с 76.3% при первой беременности до 2.7% - при пятой. Это может быть следствием отсутствия повторной иммунизации. Но возможна другая причина повторного рождения здоровых плодов – постепенное затухание иммунизации. Особенно это происходит, если предыдущая беременность завершилась незначительной иммунизацией, а следующая происходит через несколько лет. За этот срок титр аллогенных антител может резко снизиться или исчезнуть. Но после, от 6-й до 26-й беременности по нашим наблюдениям здоровые дети уже не рождаются. Наиболее частыми становятся отечные формы, несколько реже – желтушные, изредка – фетопатия с мацерацией, они вызываются значительным количеством антител. А анемическая форма, вызываемая малым количеством антител, исчезает. Все эти изменения означают, что повторные беременности вызывают усиление иммунизации и увеличение количества аллогенных антител. В этом можно видеть аналогию с повторными прививками для усиления иммунизации при профилактике инфекций.

Мы встречали случаи отечной формы ГБПН при первой беременности. Это показывает возможность проникновения Rh^0D антигенов и иммунизации довольно рано – на 6-7 месяце беременности. Иммунизация женщины может произойти также при лечебных переливаниях крови или трансплантации органов без должного лабораторного обследования. Упоминается возможность иммунизации будущей женщины, когда она еще плод, Rh^0D отрицательна, а беременная ею мать Rh^0D положительна.

7.3.3. Формы ГБПН

Выделяются 4 формы ГБПН: желтушная (два варианта – врожденная желтушная и послеродовая желтушная), отечная, анемическая и гемолитическая фетопатия с мацерацией. По периоду развития формы существенно различаются (Диаграмма 7.2.), каждая преобладает в том или ином периоде беременности. Возможна любая последовательность этих форм, у некоторых женщин рождаются только желтушные или отечные дети. Величина титра агглютинированных антител в крови более значительна в желтушной и отечной формах, а при анемической форме и при фетопатии с мацерацией имеются только низкие и немного средних титров аллогенных антител (Табл.7.3.).

Диаграмма 7.1. Различные формы ГБПН в последующих беременностях у 98 женщин, 314 беременностей (в %)

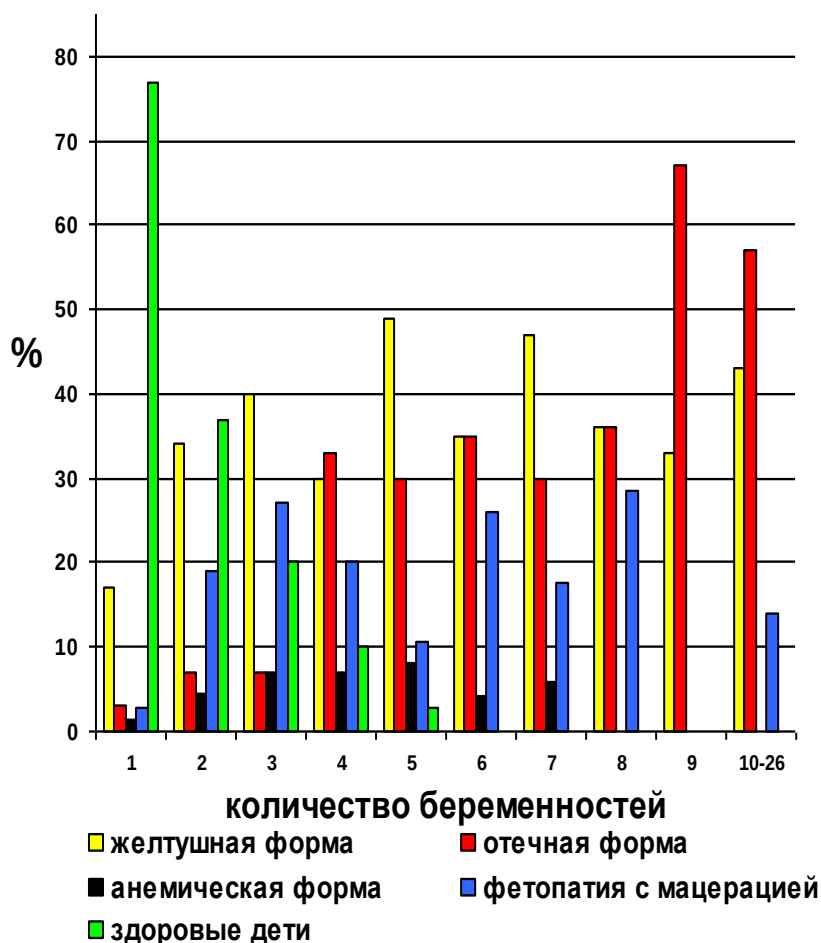


Диаграмма 7.2. Связь форм ГБПН со степенью внутриутробного развития (в % каждого срока развития)

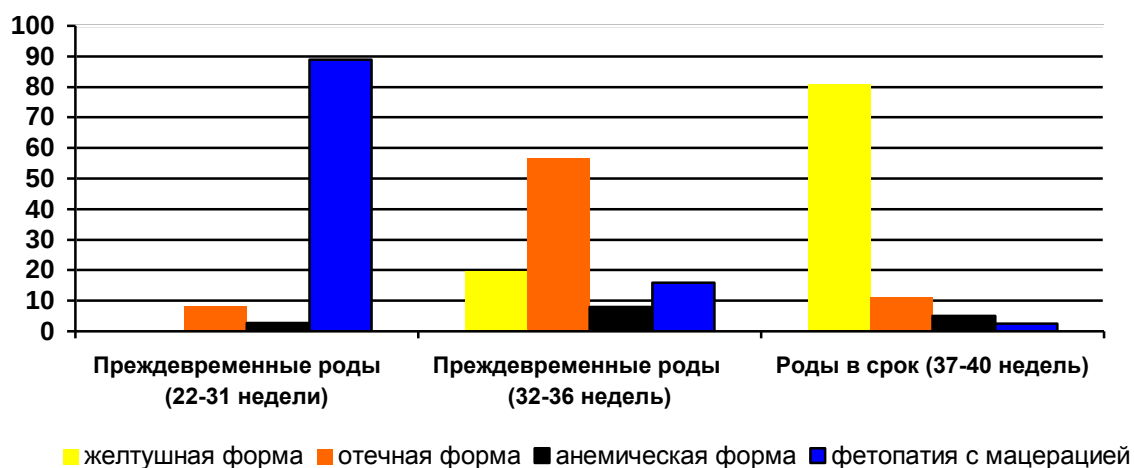


Таблица 7.3. Титр агглютинирующих антител беременной при различных формах ГБН (количество случаев)

Титр	малый				средний		высокий			Всего
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	
Желтушная форма	6	4	16	3	10	11	2	3	2	57
Отечная форма	2	5	8	7	7	5	3	1	-	38
Фетопатия с мацерацией	1	1	4	1	1	2	-	-	-	10
Анемическая форма	3	1	3	3	1	2	-	-	-	13

Количество агглютинирующих антител по степени их титра (в % случаев):

Титр	малый	средний	высокий
Желтушная форма	50.88	36.84	12.28
Отечная форма	57.89	31.6	10.52
Фетопатия с мацерацией	70.0	30.0	0
Анемическая форма	76.92	23.08	0

Таблица 7.4. Исходы беременности у иммунизированных женщин (ранний аборт (до 12 недель) не включен)

		Срочные роды (37-40 недель)	Преждевременные роды		Всего	% ГБН	% общей рождаемости
			(32-36 недель)	(22 – 31 недель)			
ГБН	Желтушная форма	96	15	-	111	48.26	35.35
	Отечная форма	13	43	3	59	25.65	18.79
	Фетопатия с мацерацией	3	12	32	47	20.44	14.97
	Анемическая форма	6	6	1	13	5.65	4.14
Всего ГБН		118	76	36	230	100	73.25
Живые и здоровые дети		73	11	-	84	-	26.75
Всего		191	87	36	314	-	100

В число случаев желтушной формы включены как погибшие после рождения (101), так и оставшиеся живыми (10) дети (Табл.7.2.). С этим связано отличие количества и % желтушных форм в Таблицах 7.2 и 7.4.

Беременности у женщин родивших детей с желтушной формой ГБН обычно протекают без осложнений у доношенных или с небольшими осложнениями у недоношенных (15 случаев, 13.5%, Табл.7.4.): единичные случаи нефропатии, анемии, многоводия или приращения последа.

7.4. Патогенные агенты

Развитие различных форм поздних аллогенных конфликтов – ГБПН, связано с патогенным действием антител, направленных на различные антигены оболочек эритроцитов. Это группы резус-антигенов, АВО и других групп антигенов. Повреждающее действие прошедших через плаценту антител зависит от интенсивности и длительности их воздействия. Имеют значение также повреждающие свойства антител и функциональная значимость повреждаемых антигенов: например, разрушение резус-антигенов вызывает гораздо большие последствия, чем действие антител на антигены группы АВО и других. Именно действие аллогенных антител, а не иммунокомпетентные клетки беременной являются пусковым процессом при ГБПН.

В процессе развития конфликта возникают другие, кроме аллогенных антител, патогенные агенты. Это включение рецепторов Fas, FasLigand, bcl-2, p53, каспазы и других, вызывающих апоптоз не только эритроцитов, но и клеток некоторых органов плода. Затем – аноксия в результате гемолиза эритроцитов; не прямой билирубин и другие токсические продукты, образующиеся при гемолизе; нарушение общего обмена веществ в результате ухудшения работы печени и других органов; повышение сосудистой проницаемости; задержка развития плода и ряд других. Их общее действие существенно осложняет патогенез ГБПН.

В то же время организм плода не является пассивным в конфликте. В нем возникают различные реактивные изменения, зависящие от длительности и тяжести процесса и продолжительности внутриутробной жизни плода. Это пролиферация эритробластов как попытка компенсировать разрушение эритроцитов. При длительном процессе конфликта она выражается в огромном увеличении печени, селезенки и других органов. При нарушении циркуляции крови, например в отечной форме, происходит значительная гиперплазия сердца. Пролиферативные процессы в иммунной системе выражаются в увеличении количества моноцитов и других изменениях в лимфоидных органах. А в финальных этапах конфликта происходит декомпенсация лимфоидной системы. Она выражается в атрофии тимуса и исчезновении лимфоидных элементов в селезенке и лимфоузлах.

Приведенные процессы не одинаково действуют при различных формах ГБПН. Так, например, при отечной и анемической формах отсутствует действие билирубина, отводящегося через плаценту в организм беременной. Но, если ребенок остается живым, могут возникнуть гипербилирубинемия и желтуха. При фетопатии с мацерацией изменения веса органов и никакие другие проявления патологических процессов на плоды малого срока развития (22 – 31 недели) не выявляются, кроме быстрого и очень массивного разрушающего действия резус-антител. Они выражаются в массовом апоптозе клеток и некрозе тканей, переходящих в мацерацию.

Но как получается такое разнообразие картин различных вариантов – форм при действии одних и тех же патогенов? Ведь при ранних аллогенных конфликтах у эмбрионов картины более или менее однотипные. А при поздних конфликтах у плодов создается такое разнообразие, что они считались разными болезнями. Они и сейчас носят разные названия: отечная, анемическая, с мацерацией; а желтушная делится на два варианта – желтушная врожденная или послеродовая. Эти деления даны по наиболее видному проявлению, заключающему патологический процесс. Суммация действия различных процессов существенно осложняет патогенез ГБПН

по сравнению с ранним аллогенным конфликтом. Но ведущие процессы в раннем и позднем конфликтах одинаковые. Это апоптоз и гибель органов.

7.5. Гемолитическая фетопатия с мацерацией

Эта форма ГБП главным образом происходит на 22-31 неделях развития (Табл. 7.2, 7.3, 7.4, Диаграммы 7.1, 7.2). Все плоды погибают до рождения. Наиболее значительные изменения – мацерация всех тканей и органов. Кожа отслоена лоскутами, надкостница отслоилась от костей черепа и мозговых оболочек, череп спадается. Мозг мазеобразный или разжижается. Клетчатка и мышцы тела бледные, влажные. Внутренние органы бескровные, дряблые, мацерированные, вес их не изменен. Мацерация менее интенсивна в органах, где сохраняются тени клеток и их ядер. В сосудах и полостях сердца иногда видны контуры единичных эритроцитов со следами апоптоза. Они видны также в органах – печени, почках, поджелудочной железе. Такой массовый апоптоз возникает в тканях эмбрионов и их оболочках при раннем аллогенном конфликте под влиянием аллогенных антител беременной, но у эмбриона мацерация тканей не наблюдается: его размеры 3-30 мм, и он целиком растворяется. В клетках печени и, менее, в селезенке имеется гемосидерин. Вес плода и его органов аналогичны нормальным. Rh⁰D-антитела действуют быстро: за несколько часов происходит распад клеток – апоптоз, а затем вся ткань разрушается. Клинически - у женщин с резус-конфликтом отмечается очень быстрая гибель плодов: за 14-20 часов до рождения еще имелись биение сердца и другие признаки жизни, но родились плоды с выраженной мацерацией. Все это позволяет считать, что при фетопатии с мацерацией происходит однократная и массивная доза Rh⁰ D-антител, охватывающая весь плод и действовавшая менее одних, максимум двух суток.

В случаях фетопатии с мацерацией у плодов преобладает небольшой титр агглютинирующих антител у матерей (титр 1:2 – 1:8 = 60%, титры 1:16 – 1:64 = 40%, Табл.7.3), более крупные титры не отмечались. Но следует учитывать малые размеры плода (22-31 недели развития). Фетопатия с мацерацией является примером внезапного и краткого прорыва аллогенных антител, когда весь плод за короткое время (менее одних суток) превращается в мацерированную массу. Следы других патогенов отсутствуют.

7.6. Анемическая форма ГБПН

В анемической форме наименьшее количество случаев – 13 (5.65%). Она встречается во все периоды – от 26 недели до родов в срок (Табл.7.4, Диаграмма 7.2), только в семи первых беременностях, в последующих она уже не встречалась (Диаграмма 7.1). Титр агглютинирующих антител у матерей невысокий (Табл.7.3). Родились живыми и умерли в первые сутки после родов 11 детей, по одному прожили 2 и 5 суток. Наиболее значительны изменения легких - гиалиновые мембраны, ателектазы, пневмония. У плодов, родившихся на 32-39 неделях и в срок, селезенка увеличена на 50%, небольшое увеличение печени, лимфоузлов и надпочечников. Желтуха и отеки отсутствуют, однако количество билирубина в крови повышено, что указывает на разрушение гемоглобина эритроцитов (Табл.7.8). Микроскопические изменения: изредка апоптоз эритроцитов и эритробластов, некроз и апоптоз клеток печени и других органов отсутствуют. Малые группы эритробластов имеются в сосудах, несколько крупнее в селезенке и печени, что

вызывает их небольшое увеличение. Увеличение селезенки и лимфоузлов является проявлением значительных групп лимфоцитов и менее - эритробластов. В гепатоцитах отмечается немного гемосидерина – следствие разрушенных эритроцитов.

Приведенные изменения показывают, что анемическая форма ГБПН возникает при небольшом по интенсивности и по длительности воздействии патогенна. За малую интенсивность говорит небольшое разрушение эритроцитов (апоптоз) и незначительные изменения других органов, слабое повышение количества билирубина в плазме крови и гемосидерина в печени. Происходят защитные реакции: умеренная пролиферация эритробластов в печени и селезенке и проявления иммунной реакции – группы лимфоцитов в селезенке и лимфоузлах. Продолжительность процесса – около двух недель. Непосредственной причиной смерти является задержка развития легких, их сосудов, гиалиновые мембраны альвеол, их ателектаз и пневмония.

7.7. Отечная форма ГБП

Вторая по количеству случаев - отечная форма – 25.65% от всего числа перенесших ГБПН. Наиболее часто приходится на роды 32-36 недель (Таблица 7.4, Диаграмма 7.2). На первые три беременности их бывает мало - 3-5%, на четвертую – восьмую - 30-35%, а на все последующие – от 9 до 26 беременностей их доля 57-68% (Диаграмма 7.1). Дети с отечной формой ГБП рождаются мертвыми или умирают через несколько минут или часов после рождения.

Отечная форма начинается с умеренного воздействия аллогенных антител, которые разрушают путем апоптоза клетки, содержащие Rh^oD антиген – эритроциты, эритробласты, менее – гепатоциты и некоторые другие виды клеток. Остальные органы – сердце, легкие, почки, эндокринные железы, мозг – первое время не поражаются. В дальнейшем действие антител не прекращается, но остается на втором плане. Вперед выходят компенсаторные процессы. Взамен погибающих эритроцитов развертывается пролиферация эритробластов в костном мозгу, печени, селезенке и, менее, в других органах. Но так как эритробласты, в свою очередь, разрушаются антителами, то их синтез в печени и в селезенке многократно увеличивают эти органы. Это сопровождается образованием массы мелких сосудов. Поэтому сердце гиперплазируется и функционирует удовлетворительно. Зато органы лимфоидной системы и эндокринные железы подавляются, а легкие не функционируют и атрофируются. В печени погибающие гепатоциты замещаются междольковым фиброзом, что приводит к тяжелому нарушению обмена. Незрелость новообразованных стенок капилляров и их повреждение аллогенными антителами резко повышают их проницаемость, возникают общий отек и водянка.

Внешний вид детей тяжелый: резкий отек лица, головы и туловища, огромный живот. Конечности чаще не отечны. Кожа пастозная, напряжена, бледная или синюшная. Подкожная клетчатка имеет вид студня. Из-за отека кожи лица глаза не открываются, переносица западает. Отечны все внутренние органы за исключением печени, сердца и почек. Резко выражена водянка полостей, в брюшной полости 170-800 мл желтоватой прозрачной жидкости, в плевральных полостях 5-100 мл в каждой, иногда диафрагма выбухает в брюшную полость, в перикарде 2-40 мл жидкости. Множественные мелкие кровоизлияния в кожу, подкожную клетчатку, в мышцы, слизистые оболочки. Очень увеличена селезенка, ее вес от 20 до 130 г (вес селезенки взрослого человека, в среднем 150 г), были случаи разрыва ее во время рождения. Увеличение веса селезенки идет за счет размножения

эритробластов и лимфоцитов, но в большей степени из-за отека. Увеличены также печень (230% нормы) и сердце (153%)(Рис.7.3.1,2,3). Вес легких уменьшен (88% нормы) (Табл.7.5). Плацента отечна, вес ее от 880 до 2450 г., в сосудах ворсин содержатся эритробласты.

Микроскопически в печени, селезенке, лимфоузлах, легких, поджелудочной и щитовидной железах и других органах - апоптоз эритроцитов и эритробластов, часть их фагоцитирована моноцитами (Рис.7.1). В печени некроз гепатоцитов, значительный фиброз, множественные крупные группы эритробластов, моноциты единичные. Стенки капилляров и мелких сосудов различных органов пропитывает плазма, вплоть до некроза, а местами образуется тромбоз (см.Рис.7.2.1,4). В селезенке, печени, легких и других органах группы эритробластов окружают озера плазмы, содержащие свободный гемоглобин и гемосидерин – следы разрушенных эритробластов. Повышается проницаемость сосудов, растет отек окружающих тканей и полостей, мелкие кровоизлияния. Задерживается развитие легких (особенно альвеол), клубочков почек, у мальчиков яички располагаются в половых канальцах или даже в брюшной полости.

Но происходят также компенсаторные изменения. В ответ на разрушение эритроцитов развертывается пролиферация эритробластов не только в костном мозгу, но также в печени, селезенке, в строме различных органов. И это притом, что в нормальном развитии прекращение синтеза эритробластов заканчивается еще на 11 неделе развития (Табл.5.2). Но вновь созданные эритробласты также разрушаются, и анемия растет. Вместе с повреждением сосудов это вызывает перегрузку сердца в 1.5 и более раз. Оно увеличивается не за счет отека, склероза или гипертрофии - происходит гиперплазия – увеличение количества кардиомиоцитов, подлинная компенсация повышенной нагрузки сердца из-за гидремии – увеличения объема разжиженной крови. Весь комплекс этих изменений – приспособительных, замещающих и атрофирующихся - при продолжающем поступлении умеренного количества аллогенных антител плод выдерживает от нескольких недель до 2-4 месяцев. По сравнению с другими редко измененными органами мозг страдает мало. Это отрицает действие Rh^0D антител на мозг. Непосредственной причиной гибели плода является полное нарушение обмена и функций органов, наступающее до, во время или вскоре после рождения. Так завершается отечная форма. Ее долгое течение вызвано относительно небольшим, но непрерывным и длительным действием Rh^0D антител и мощными компенсаторными, приспособительными процессами для внутриутробной жизни плода.

Иммунная система нормального плода на 32-40 неделях уже достаточно развита: она способна в определенной степени к жизни после рождения. Некоторые проявления ответа на иммунные воздействия видны и в отечной форме: увеличение числа лимфобластов в селезенке и лимфоузлах. Но, хотя и умеренное, но длительное патогенное воздействие приводит иммунную систему к декомпенсации: уменьшается число В-лимфоцитов, синтезирующих IgM+ иммуноглобулины, резко снижаются показатели моноцитов, общего количества лимфоцитов и лимфобластов, всех остальных параметров (Таблица 7.6.), вдвое уменьшается тимус. Патогенные факторы расширяются, и резус-антитела действуют не только на эритроциты, но и другие факторы на различные ткани и органы. Повреждаются сосуды, угнетаются кроветворная и эндокринная системы, развивается анемия, некрозы (Рис.7.2.4), отеки, задержка развития органов, фиброз, в том числе печени (Рис.7.3.5). Все это делает плод нежизнеспособным.

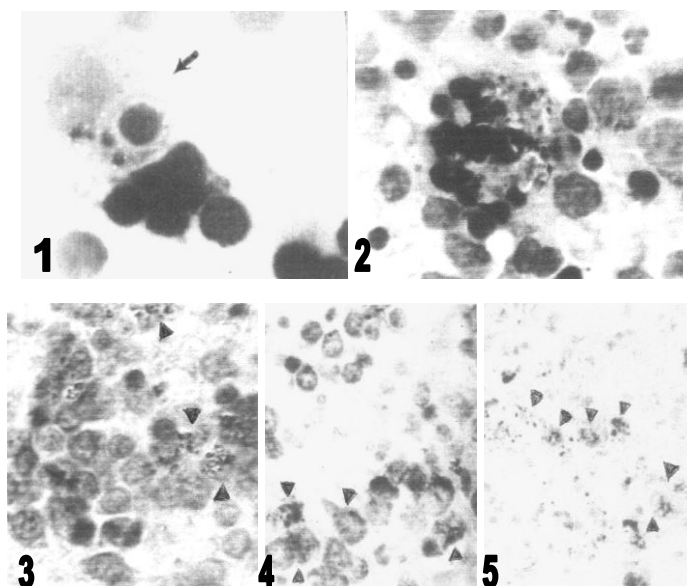


Рис.7.1. ГБПН является следствием действия антител беременной к Rh⁰D или других антигенов, которые отсутствуют у нее, но имеются у плода, в основном в эритроцитах. Поэтому первоначальным патогенным фактором при ГБПН является разрушение меченных антителами эритроцитов. Оно производится моноцитами плода или путем апоптоза. 1 – селезенка. Моноцит (стрелка) фиксирует, фагоцитирует (см.Рис.6.1.) эритробласты и разрушает их, x1300. 2 – костный мозг, то же, x1100. 1 и 2 – реакция Романовского-Giemsa. 3 – печень. Апоптоз эритроцитов и эритробластов (▲), x800. 4 – селезенка, то же (▲), x500. 5 – надпочечник, то же (▲), x400. Рис.3, 4, 5 – окраска по Brachet.

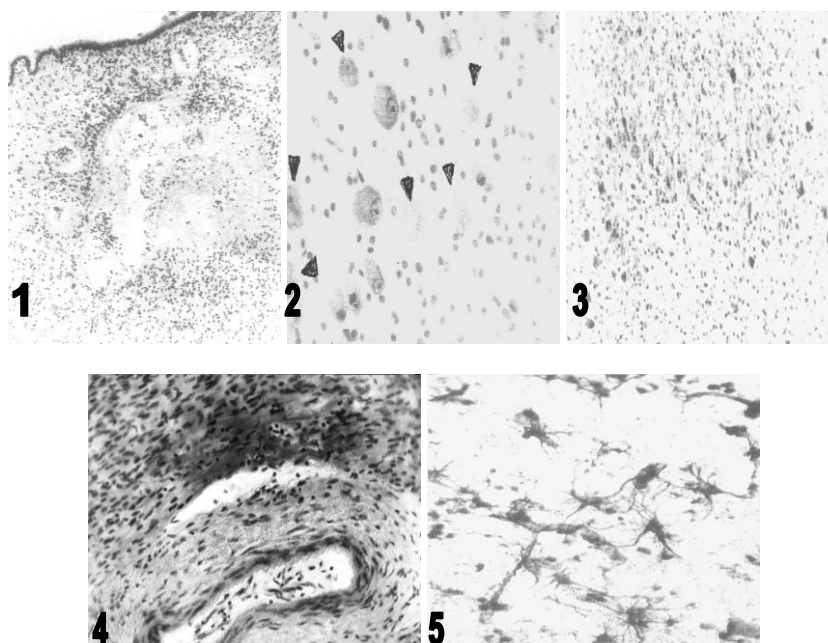


Рис.7.2. Дальнейшее развитие патологических процессов. 1 – ножка мозга. Некроз с образованием кисты, гиперплазия глии, лейкоциты, x80, гематоксилин-эозин. 2 – мозжечок. Гибель нейронов – тени (▲), x400, окраска по Nissl. 3 – то же: значительное сокращение числа нейронов, пролиферация глии, x150, окраска по Nissl. 4 – сердце. Некроз миокарда, отек, небольшая лейкоцитарная инфильтрация, x200, гематоксилин-эозин. 5 – мозжечок. Гипертрофия и гиперплазия астроцитов, x600, окраска по Sajal.

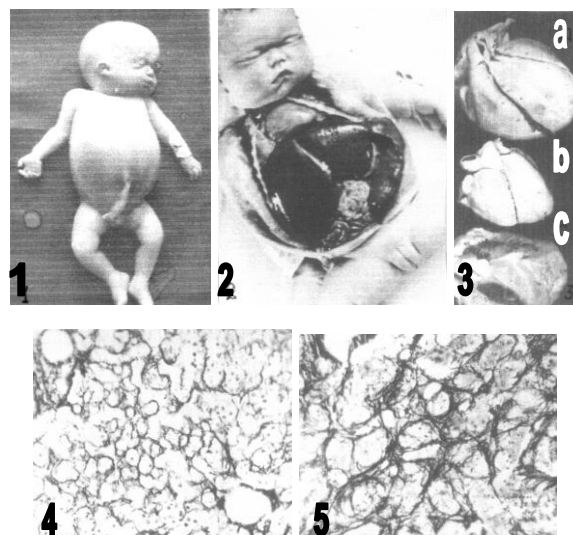


Рис.7.3. Наиболее длительное течение при ГБПН - при отечной форме. 1 – при умеренном течении (до 6 – 8 месяцев): резкий отек, особенно головки и туловища, асцит. 2 – более длительное течение (до 8 – 9 месяцев): резкое увеличение печени (вес 250 г, норма 156 ± 4 г), селезенки (101 г, норма 11.9 ± 1.0 г), отеки умеренные. 3 – гипертрофия сердца: **а** – 30.0 г, **б** – контроль, нормальный плод 9 месяцев – 17.9 ± 0.7 г, **с** – 37.2 г. 4 – печень, нормальное содержание коллагена у доношенного плода. 5 – печень при отечной форме ГБП содержит очень большое количество коллагена – выраженный фиброз. 4 и 5 окраска по Foot, x200.

**Таблица 7.5. Вес органов плодов погибших от ГБПН
(в % к контролю)**

Органы (в % веса)	Контроль n=28	Анемическая форма n=6	Желтушная форма послеродовая n=32	Желтушная форма врожденная n=38	Отечная форма n=52
Вес тела	100±6	100±12	100±17	106±10	158±20 ^{a,b,c,d}
Селезенка	100±11	155±15 ^a	182±23 ^a	272±36 ^{a,b,c}	476±64 ^{a,b,c,d}
Тимус	100±7	90±7	71±12 ^a	61±6 ^{a,b}	56±8 ^{a,b}
Сердце	100±6	93±12	89±11	100±15	150±14 ^{a,b,c,d}
Легкие	100±4	100±13	103±9	117±19	81±8 ^a
Печень	100±4	109±9	102±12	139±9 ^{a,b,c}	198±15 ^{a,b,c,d}
Почки	100±5	105±16	87±7	92±10	97±21
Щитовидная железа	100±5	100±19	98±7	100±9	127±12 ^{a,c}
Надпочечники	100±9	86±10	83±8	114±12 ^c	138±14 ^{a,b,c}

Достоверность отличий ($p < 0.05-0.001$): ^a - к контролю; ^b - к анемической форме; ^c - к желтушной форме послеродовой; ^d - к желтушной форме врожденной.

Таблица отражает патологические изменения в формах ГБПН, вызванных влиянием патогенов (интенсивность и длительность воздействия), развитием компенсаторных реакций и проявлением декомпенсации. В формах слева направо тяжесть изменений нарастает (Табл.7.6 и 7.7).

Эти тяжелые процессы могут вызвать реакции в организме беременной, Имеются данные об отклонении комплекса беременная – плод (O.Genbacev et al., 1999; F.Reister et al., 1999, 2001; R.Austgulen, 2004) с участием антигенов HLA-DR (M.R.Burk et al., 2001). Есть основания полагать, что не только трофобласт и плод

являются мишенью иммунного влияния беременной (R.Bulla et al, 2003; J.G.Gross, 2003), но и плод может дать ответ на ее аллогенные влияния (S.I.Fisher, 2004; I.L. Sargent et al., 2006).

Таблица 7.6. Морфометрические параметры селезенки при ГБПН

Параметры	Контроль n=18	Желтушная форма послеродовая n=25	Желтушная форма врожденная n=27	Отечная форма n=18
Средний вес селезенки новорожденных (%)	100 ± 11	182 ± 23 ^a	272 ± 36 ^{a b}	476 ± 64 ^{a b c}
Наибольший вес, г	12.4	22.4	64.5	130.2
Число фолликулов на 1 мм ² слайда	5.2 ± 0.9	4.5 ± 0.8	2.1 ± 0.4 ^{a b}	0.2 ± 0.1 ^{a b c}
Площадь фолликулов (% площади слайда)	22.1 ± 2.4	24.4 ± 2.3	12.8 ± 1.9 ^{a b}	2.1 ± 1.4 ^{a b c}
Число клеток в фолликуле (на 10000 μм ²)	150.2 ± 14.3	142.8 ± 9.4	114.8 ± 8.1 ^{a b}	85.8 ± 11.6 ^{a b c}
Лимфоциты в фолликулах (% числа)	80.1 ± 6.7	52.6 ± 3.1 ^a	46.4 ± 2.7 ^a	33.0 ± 2.9 ^{a b c}
Лимфобласты в фолликулах (% числа)	3.2 ± 0.9	18.2 ± 2.2 ^a	24.3 ± 1.9 ^{a b}	18.1 ± 2.1 ^{a c}
Моноциты в фолликулах (% числа)	2.2 ± 0.3	4.4 ± 0.7 ^a	5.2 ± 0.7 ^a	1.3 ± 0.2 ^{a b c}
Число клеток в красной пульпе (на 10000 μм ²)	88.7 ± 5.5	84.1 ± 3.6	66.7 ± 5.1 ^{a b}	98.5 ± 6.1 ^{b c}
Лимфоциты в красной пульпе (% числа в фолликулах)	39.8 ± 5.2	25.6 ± 4.8	23.1 ± 5.6 ^a	13.3 ± 1.2 ^{a b c}
Лимфобласты в красной пульпе (% числа в фолликулах)	2.0 ± 0.8	10.6 ± 3.4 ^a	10.9 ± 4.1 ^a	4.9 ± 0.8 ^{a b c}
Моноциты в красной пульпе (% числа в фолликулах)	4.6 ± 0.2	7.4 ± 1.1 ^a	12.9 ± 2.1 ^{a b}	1.1 ± 0.8 ^{a b c}
Эритробласты в красной пульпе (% числа в фолликулах)	0.1 ± 0.1	0.1 ± 0.1	23.6 ± 5.1 ^{a b}	63.2 ± 8.8 ^{a b c}
Число IgM(+) лимфоцитов (на 10000 μм ²)	0.1 ± 0.1	1.3 ± 0.2 ^a	4.3 ± 1.5 ^a	0.1 ± 0.1 ^{b c}

Достоверность отличий (p<0.05-0.001): ^a - к контролю; ^b – к желтушной форме послеродовой; ^c - к желтушной форме врожденной.

Селезенка отражает иммунные реакции в формах ГБПН. В желтушной послеродовой форме происходят умеренные положительные иммунные реакции: повышение веса селезенки, увеличение числа лимфобластов и моноцитов в фолликулах и красной пульпе, количества IgM(+) В-лимфоцитов (повышение синтеза IgM). Уменьшение числа лимфоцитов замещается ростом числа лимфобластов. В желтушной врожденной форме изменения те же, но более значительные. В отечной форме имеются признаки тяжелой недостаточности иммунных реакций: резкое, в десятки раз, уменьшение числа и площади фолликулов, количества клеток в них, в том числе моноцитов. Количество IgM(+) В-лимфоцитов снизилось до контроля. Огромная пролиферация эритробластов в красной пульпе явилась следствием массового разрушения красных кровяных клеток и, наряду с отеком, причиной чрезмерного увеличения селезенки.

7.8. Желтушная форма ГБН

Желтушная форма ГБН является наиболее частой среди других форм аллогенных конфликтов – 48.26% в наших наблюдениях (Табл.7.4). Их частота возрастает от первой до третьей беременности и затем остается, вместе с отечной формой, самой высокой (Диаграмма 7.1). Дети с этой формой ГБН обычно рождаются в срок и лишь изредка на 32-36 неделях (Диаграмма 7.2). Все дети желтушной формы рождаются живыми, их состояние удовлетворительное или даже хорошее.

Выделяют два варианта желтушной формы ГБН: желтушная врожденная (или с анемией) и желтушная послеродовая (или без анемии).

7.8.1. Желтушная форма ГБН врожденная (или с анемией)

В течение всей беременности развитие плода происходит нормально. Незадолго до начала рождения к нему проходит некоторое количество аллогенных антител. У плодов происходит умеренный апоптоз, главным образом эритроцитов в печени и селезенке, они умеренно увеличиваются (проявление пролиферации эритробластов). Все это происходит недолго. Эта форма составляет 20.72% желтушной формы ГБН. Дети рождаются живыми с незначительным увеличением веса (Таблица 7.5.) и легкой желтухой. Состояние их ухудшается по часам с усилением желтухи. Начинаются срыгивания желтушных масс, иногда с кровью. Небольшие кровотечения возможны также из пупка, носа и в коже. На второй-третий день уровень билирубина в крови поднимается до чрезвычайного (Табл.7.8.). Общее состояние очень тяжелое. Развиваются инфекционные осложнения: пневмония бывает значительной уже во второй половине первых суток, сепсис на 2-4 день. Причиной инфекции являются вульгарные штаммы кишечной палочки. Средняя продолжительность жизни 1.7 дней, максимальная продолжительность – 4 дня.

При вскрытии дети без признаков недоношенности, окраска кожи и тканей шафраново-желтого цвета. Значительно (в 2.6 раза) увеличена селезенка (Табл.7.6 и 7.7). В лимфоузлах фолликулы отсутствуют, синусы расширены. Печень увеличена в 1.4 раза, красно-коричневого цвета, гемосидерина немного, имеются некротизированные участки долек. Сердце нормальных размеров. Легкие увеличены за счет пневмонии, иногда абсцедирующей (Табл.7.5), гиалиновые мембраны в альвеолах, иногда желтоватого цвета. Почки несколько уменьшены, иногда сосочки пирамид янтарно-желтого цвета, в эпителии извитых канальцев немного гемосидерина. Желудок и кишечник - мелкие кровоизлияния. Тимус уменьшен вдвое, находится в IV стадии акцидентальной инволюции. Апоптоз эритроцитов в печени, легких, распавшиеся эритробласты фагоцитируются моноцитами.

Таким образом, у врожденного варианта желтушной формы ГБН аллогенный конфликт начинается незадолго перед началом рождения. Об этом свидетельствуют умеренные, но достаточно четкие изменения органов и, в частности, селезенки и лимфоузлов. В них проходит компенсаторная пролиферация лимфобластов и моноцитов, начинается синтез IgM против антител беременной.

Таблица 7.7. Количество иммуноглобулинов в сыворотке крови новорожденных с Rh⁰ D гемолитической болезнью (мг/100 мл)

Виды иммуноглобулинов	Здоровые новорожденные (контроль)	Желтушная форма послеродовая	Желтушная форма врожденная	Отечная форма
IgG	252 ± 156	1395 ± 115 ^a	1241 ± 92 ^a	578 ± 142 ^b
IgA	12.2 ± 3.3	30.6 ± 10.1 ^a	43.4 ± 11.4 ^a	3.1 ± 2.4 ^{a b}
IgM	22.3 ± 2.1	42.5 ± 2.9 ^a	51.4 ± 4.2 ^a	5.2 ± 4.1 ^{a b}

^a - достоверные (p<0.02-0.001) отличия от контрольной группы; ^b - достоверные (p<0.01-0.001) отличия от обеих желтушных форм.

В обоих вариантах желтушной формы ГБН у плодов происходит резкое (пятикратное) увеличение количества IgG, а также IgA–антител, в основном, происхождения беременной. Это свидетельствует о тяжелом воздействии беременной против плода. Но увеличено также количество IgM производства плода против антител беременной. Эти изменения отражают недавнее развитие аллогенного конфликта беременной – плод.

В отечной форме ГБН у плода количество IgG производства беременной вдвое больше контрольной, но меньше их количества в желтушной форме. Это может быть следствием длительного поступления умеренного количества антител беременной к плоду. Количество IgM плодов в четыре раза меньше контроля и в 8-10 раз меньше, чем в обоих вариантах желтушной формы. Это следствие декомпенсации иммунной системы плода в отечной форме.

7.8.2. Желтушная форма ГБН послеродовая (или без анемии)

В нашем материале этот вариант составляет 79.28% желтушной формы. Внутриутробное развитие происходит нормально, без всяких осложнений. Лишь во время родов материнская кровь, содержащая аллогенные антитела, проникает в организм рождающегося. При рождении признаки болезни отсутствуют, хорошее состояние новорожденного, у него громкий крик, активная подвижность, отсутствие желтушности и бледности. Ребенок хорошо сосет при прикладывании к груди. Увеличение органов и анемия отсутствуют (количество эритроцитов не менее 5 млн/мл), билирубин почти нормальный (Табл. 7.8). Такое состояние сохраняется в течение первых 12-24 часов. Состояние меняется с появлением желтухи и ухудшается пропорционально ее усилению. Однако анемия не доходит до тяжелой. Мелкие кровоизлияния в кожу и слизистую отмечены у половины детей.

Морфологические изменения невелики. Селезенка увеличена в 1.5-2 раза (Табл.7.6), главным образом за счет гиперемии красной пульпы, где происходит разрушение эритроцитов путем апоптоза, моноциты, содержат много гемосидерина (остатки эритроцитов). Разрушение эритроцитов и моноцитов, интимы мелких сосудов, а кое-где некроз части долек происходит в печени. Во внутридольчатых желчных капиллярах и в междольковых желчных протоках накапливается билирубин, иногда в виде сгустков. Разрыв желчных капилляров образует озера желчи, сообщающиеся с лимфатической системой. Это способствует разносу непрямого билирубина по организму. Накапливается он главным образом в мозгу, а также в богатых жировой клетчаткой органах и тканях. В миокарде иногда имеются мелкие некрозы.

Таблица 7.8. Количество билирубина в крови детей с ГБН (в мг%)

	Время определения	Количество определений	Билирубин (мг%)
Желтушная форма	0-12 часов	16	3.75 ± 1.51
	12-36 часов	12	14.44 ± 6.3
	36 часов – 3 дня	8	35.7 ± 5.82 ^{ab}
	4-5 дней	2	31.2 ± 3.91 ^{ab}
Отечная форма		13	1.04 ± 0.43
Анемическая форма		9	4.0 ± 3.1

^{ab} - достоверные ($p < 0.05-0.001$) отличия от первой и второй строк.

В отечной форме плоды погибают внутриутробно, уровень билирубина в крови у них нормален. В анемической форме дети умерли после рождения в первые сутки, уровень билирубина повышен умеренно. У детей с желтушной формой в первые 12 часов после рождения уровень билирубина также повышен умеренно, но затем резко повышается с каждым часом. Эти сравнения показывают, что удаление билирубина через плаценту более интенсивно, чем способность выделения его печенью и почками новорожденных.

Анализ полученных данных показывает, что послеродовой вариант желтушной формы ГБН развивается в результате кратковременного, умеренного поступления аллогенных антител во время рождения. Действие этих антител сосредоточивается в основном на эритроцитах в печени и селезенке, а также на их паренхиме, и на сердце. Разрушение эритроцитов приводит к образованию непрямого билирубина, возникает высоко токсичный уровень его в крови. Действие непрямого билирубина вызывает тяжелые повреждения мозга, являющиеся непосредственной причиной смерти новорожденных – билирубиновой энцефалопатии. Инфекционные осложнения отмечены у половины детей. Десять детей (9.01% из 111 новорожденных с обоими вариантами желтушной формы, к которой они относились), перенесли ГБН и выздоровели без специального лечения.

7.8.3. Желтушная форма ГБН при конфликте по системе ABO

По нашим и литературным данным формы ГБН - отечная, анемическая и фетопатия с мацерацией - при ABO-аллогенном конфликте не наблюдаются, имеется только послеродовая желтушная форма. После рождения первые 1-2 суток дети внешне здоровы, анемия отсутствует. Состояние ухудшается с появлением и усилением желтухи. Средняя продолжительность жизни 5.4 суток. Отсутствуют признаки длительного внутриутробного повреждения. Основным проявлением аллогенного конфликта является разрушение эритроцитов путем апоптоза. Эти повреждения тканей и органов невелики. Изменение мозга соответствует в основном билирубиновой энцефалопатии при резус-конflikте. Воспалительные изменения аналогичны.

Таким образом, ГБН по антигенам ABO в основном аналогична желтушной послеродовой форме ГБН и ее билирубиновой энцефалопатии. При желтушной форме ГБН при антигенах Rh⁰D и ABO аллогенные антитела не проникают через плацентарный барьер в плод в течение всей беременности. Проникновение антител происходит однократно: незадолго перед родами (дородовый вариант) или во время родов и проявляется после них (послеродовый вариант). Специфическое их действие – разрушение клеток путем апоптоза - ограничивается немногими

органами, в основном это эритроциты в печени и селезенке с небольшим поражением клеток. Это означает, что количество проникших в плод аллогенных антител невелико. При разрушении эритроцитов выделяется значительное количество непрямого билирубина: в крови плодов в конце первых и на вторые сутки его количество достигает 14-35 мг%. Особенностью желтушной формы ГБН является желтуха – пропитывание билирубином тканей, особенно богатых жиром. Во всех остальных формах ГБПН, в которых Rh⁰D антитела беременной тоже разрушают эритроциты и клетки органов, желтуха не образуется. Причина этого в том, что билирубин по мере образования удаляется через плаценту к беременной, ее крупная печень удаляет его быстро и без осложнений. Но в вариантах желтушной формы (врожденная и послеродовая) плод получает аллогенные антитела в период рождения, когда прерывается связь с матерью. И вот, когда аллогенные антитела разрушают эритроциты и быстро (за несколько часов) перегружают кровь большим количеством билирубина, печень новорожденного не успевает обезвредить и удалить его. Кровь разносит билирубин по всему организму новорожденного, он и становится главным патогеном. Повреждающее действие аллогенных антител завершается: связь с матерью прекратилась. Анемия невелика или отсутствует, лимфоидная система (селезенка, лимфоузлы, тимус) пострадала мало, кровообращение сохранено. На 4-5 день после рождения количество билирубина в крови уже начинает снижаться. Но большинство новорожденных с желтушной формой ГБН гибнет. И это потому, что плод с отечной формой ГБП, меньшего срока внутриутробного развития, с тяжелейшими изменениями всех систем организма, но без желтухи, сохраняет внутриутробную жизнь еще до 2-4 месяцев. Причиной гибели новорожденных с желтушной формой ГБН является действие билирубина на мозг – билирубиновая энцефалопатия.

7.8.4. Заключение разделов 7.4 – 7.8. Особенности патологии различных форм ГБПН

Проникновение аллогенных антител в организм плода во многом остается неясным. Раньше 22 недель беременности аллогенные антитела через плацентарный барьер не проходят. Но и в последующие сроки антитела проходят по-разному и в разное время (Табл.7.4). Иногда аллогенные антитела врываются в виде бурной атаки, чаще на 22-31 неделях. Это форма фетопатия с мацерацией: плоды гибнут и полностью мацерируются за 14-20 часов. В последующие 32-36 недель проникновение аллогенных антител происходит обычно, медленно, понемногу и долго; возникает отечная форма. Плод вынужден выполнять реакции приспособления к этим чрезвычайным условиям. Это тяжело нарушает деятельность печени, селезенки, сердца – всех органов, делая плод уродливым. В последние 37-40 недель беременности чаще всего разворачивается желтушная форма – перед родами или во время родов. Прекращение выделения продуктов распада гемоглобина через плаценту к роженице создает дополнительный тяжелый патоген – непрямой билирубин.

Можно выделить два варианта подачи аллогенных антител к плоду при Rh⁰D. Один - острый – при фетопатии с мацерацией и послеродовой вариант желтушной формы, когда за короткое время в плод забрасывается значительное количество антител. Другой вариант - субхронический – отечная форма и отчасти дородовый вариант желтушной формы. Анемическая форма располагается между этими двумя вариантами – малый по скорости подачи антител, по количеству их и низкому

титру. При позднем конфликте ГБПН обычно существует только желтушная форма аллогенного конфликта.

Транспорт аллогенных антител при ГБПН, особенно при Rh⁰D конфликте, остается неясным. Представление об их беспрепятственном переходе через плацентарный барьер к плоду исключается. Наличие барьеров перед проникновением аллогенных антител базируется на ряде фактов. Это бесспорная непроницаемость их в первые 22 недели беременности. Образование четырех форм ГБПН происходит при явном прорыве какого-то препятствия для аллогенных антител. Оно может быть одноразовое и массивное (при фетопатии с мацерацией, отчасти при послеродовом варианте желтушной формы), длительное и менее интенсивное (отечная форма, отчасти – дородовый вариант желтушной формы), или краткое и слабое (анемическая форма). Часто плацента остается непроницаемой для аллогенных антител в течение всего срока беременности. И это притом, что иммуноглобулины неаллогенного характера вполне свободно проходят через плацентарный барьер. Проникновение крови беременной с аллогенными антителами возможно лишь с приближением родов и во время их, при сокращении матки и разрыве ворсин плаценты. Этот механизм прохода антител представляется возможным (теоретически). Но как проходят аллогенные антитела во время беременности, повторно или длительно, или вообще не проходят, оставляя плод интактным – неясно.

Иммунная система плодов после 22 недель развития способна ко многим действиям, в том числе к производству иммуноглобулинов против всякого вида белков. Но производство их против аллогенных антител мало вероятно по двум обстоятельствам. При быстром развитии конфликта у плода нет времени для подготовки к производству антител (2-2.5 недели), ведь для плода этот конфликт – первый, будь он для беременной хотя бы пятым или десятым. А при длительном течении конфликта вся иммунная система плода угнетена аллогенными антителами.

Однако, исключить иммунную систему плода при позднем аллогенном конфликте преждевременно. У женщин, родивших детей с отеочной формой Rh⁰D ГБПН отмечается преэклампсия, токсикозы беременности, анемия неясного происхождения (Y.W.Loke, A.King, 1997; D.S.Goldman-Wohl et al., 2000; F.Reister et al., 2001; R.Austgulen, 2004; В.И.Кулаков и другие, 2005). Представляется, что эти процессы могут быть следствием иммунных и прочих реакций со стороны плода, но исследования в этом направлении недостаточны. Иммуноглобулины G и A, антимикробные или другого вида, достаточно свободно транспортируются через плацентарный барьер большим количеством различных рецепторов. Но IgM в нормальном состоянии беременной не транспортируется через плацентарный барьер. Лишь при инфекциях, иммунных и других влияниях перенос IgM через барьер осуществляется рецепторами SC и J-цепью, теми, которые транспортируют IgG и IgA. Рецепторы эти находятся в трофобласте в составе СИС. Аллогенные антитела при раннем конфликте тоже наиболее активно фагоцитируют различные виды трофобласта. По-видимому, задержка аллогенных антител при поздних конфликтах осуществляется теми же способами, какими задерживается IgM.

7.9. Билирубиновая энцефалопатия при желтухах новорожденных и ГБН

Билирубиновая энцефалопатия иногда начинается на фоне нормального состояния новорожденного. В конце первых – на вторые-третьи сутки после рождения появляется желтуха – и быстро ухудшается общее состояние. В сыворотке крови новорожденного уровень иммуноглобулинов, особенно IgG (материнские) увеличивается в 5.5 раз по сравнению со здоровыми новорожденными, количество билирубина в крови повышается в 15-40 раз (Таблица 7.8). Появляются признаки поражения мозга – судороги, косоглазие, напряжение и изгиб спины. Мозг изменяется: на фоне белого или слегка желтоватого цвета мозгового вещества четко выделяется яркая оранжево-желтая окраска определенных областей (Рис.7.4-7.9). Последствия билирубиновой энцефалопатии тяжелые: если ребенок не умирает в остром периоде, то после некоторого светлого промежутка (от нескольких месяцев до 10 лет) возможно развитие послеежелтушной энцефалопатии. Она выражается в гипертонусе мышц, атаксии (ataxia) , атетозе (athetosis), отставании умственного развития вплоть до идиотии.

Впервые желтуху новорожденных с яркой желтой окраской ядер мозга описал J.Orth (1875). G.Schmorl (1904) дал ей название ядерная желтуха (kernicterus), в настоящее время шире применяется термин билирубиновая энцефалопатия. Было выявлено, что ядерная желтуха, кроме ГБН, может осложнять также другие патологические процессы, связанные с желтухой новорожденных. Это сепсис, массивные кровоизлияния, аноксия, синдром Crigler-Najjar и другие. Выяснено, что непрямой билирубин является тяжелым клеточным токсином, который блокирует ферменты. В результате неясно: является ли повреждение ядер мозга действием билирубина и зависит ли тяжесть поражения мозга от уровня непрямого билирубина в крови? Быть может ядра мозга повреждают какие-либо другие патогены, а билирубин только окрашивает нарушенные участки мозга? Ответы на эти вопросы в разделе 7.10.

7.9.1. Состояние мозга при желтухах новорожденных не связанных с ГБН

Из 2379 вскрытий по поводу перинатальной смерти, на которых основываются наши исследования, общая желтуха имела в 122 случаях (5.1%). Ядерная желтуха имела в 54 из них (2.3% ко всем вскрытиям и 44.3% к случаям желтухи). Общая желтуха новорожденных, кроме ГБН, встретила при желтухе недоношенных, септической и других инфекциях, желтухах при массивных кровоизлияниях, атрезии желчных путей. Из них 20.4% составляли случаи с ядерной желтухой мозга, 79.6% - дети с ГБН.

Желтуха недоношенных, общая -31 случай. Вес новорожденных 920-2100 г. Общая желтуха появлялась на 1-2 день, изредка на 3-4. Причина смерти - пневмония (21) или пневмония с родовой травмой (10). На вскрытии: мозг с признаками незрелости. Диффузная слабо выраженная желтушная окраска мозга у 29 больных, ядерная желтуха у двух.

Септическая желтуха, общая – 16 случаев. Сепсис пупочный (10 случаев), легочный (4), кожный на почве буллезного эпидермолиза и инфицированное менингоцеле (по одному). Вес детей 2200-4400 г. Желтуха общая появилась на 3-6 день рождения, длительность жизни 3-30 дней. Сепсис вызван кишечной палочкой, стрептококком или золотистым стафилококком. Ядерная желтуха мозга (7 случаев)

менее интенсивна и менее распространена, чем в ГБН, в трех из них имелась также диффузная окраска мозга. У одного из этих детей развился гнойный менингит.

Другие инфекции – 4 случая, врожденная генерализованная цитомегалия (2), токсоплазмоз (1), листериоз (1), все доношенные. Общая желтуха слабо выражена, окраска мозга отсутствует.

Желтухи общие при значительных кровоизлияниях – 8 детей, в том числе 7 случаев кефалогематомы (cephalhematoma), из них 5 в сочетании с внутричерепным кровоизлиянием, один с кровоизлиянием в надпочечники, в забрюшинную клетчатку и гемоперитонеумом. Вес детей 2400-4400 г, общая желтуха появилась на первый день у 3, на второй – у 4, на третий день – у одного. Диффузная желтуха мозга у двух. Ядерная желтуха у одного, страдавшего кроме родовой травмы болезнью Дауна.

Таблица 7.9. Причины и частота общей и ядерной желтухи новорожденных

	Ж е л т у х и							ГБН	Всего
	Недоношенных	Сепсис	Другие инфекции	Крупные кровоизлияния	Атрезия желчных путей	Неясного происхождения	Всего без ГБН		
Общая желтуха	31	16	4	8	2	3	64	58	122
Ядерная желтуха мозга	2	7	-	1	-	1	11	43	54
% ядерной желтухи	6.4	43.7	-	12.5	-	-	17.2	74.1	44.3

Приведенные данные показывают: билирубиновая энцефалопатия в периоде новорожденности встречается в желтухах недоношенных, сепсисе и крупных кровоизлияниях, общих или в мозгу. Присоединение гнойного менингита, кровоизлияний в мозг или пороков развития на фоне общей желтухи не влияют на развитие ядерной желтухи. Влияние количества билирубина – см. в Таблице 7.10. Все случаи билирубиновой энцефалопатии без ГБН составляют 0.46% всех случаев перинатальной смерти и 17.2% случаев общей желтухи новорожденных. Желтушное окрашивание ядер стволовой части мозга в перечисленном виде желтух в основном соответствуют ядерной желтухе ГБН: окрашиваются часть ядер продолговатого мозга, моста, зубчатого ядра мозжечка, аммоного рога, зрительного бугра, чечевичное и хвостатое ядра. Желтушное окрашивание при билирубиновой энцефалопатии менее распространено и менее интенсивно, чем при ГБН. Микроскопия нейронов показывает острое набухание и отсутствие тяжелых изменений: некроза и апоптоза. Изменения глии и сосудов выражены также гораздо слабее, чем при желтушной форме ГБН.

7.9.2. Поражение мозга эмбрионов при раннем аллогенном конфликте

Эти поражения могут иметь два направления. Одно из них – прямое действие аллогенных антител. Оно выражается в массовом апоптозе большинства органов. Одновременно охватывается более 50% клеток печени, мозговой трубки, меньше – почек, сердца и других органов, немного клеток стромы. При этом клетки TUNEL – положительны, содержат IgG, IgA и IgM. Часть этих клеток еще целые. Другие, уже начавшие распадаться, еще содержат иммуноглобулины, это подтверждает их патогенное действие. Клетки, распавшиеся на мелкие гранулы, уже теряют

иммуноглобулины. Столь массовая гибель жизненноважных клеток завершается быстрой гибелью и разрушением эмбриона (Глава 5.8).

Второй вариант гибели эмбриона при раннем аллогенном конфликте – это резкое нарушение его обмена веществ и количество апоптоза аллогенных антител. Преэмбрион и эмбрион слишком малы чтобы вызвать значительную иммунизацию беременной и поэтому производство антител невелико (Глава 5.8). В снижении количества и действия антител участвуют также интенсивная фагоцитарная активность инвазивного трофобласта, трофобласта лакун, синцитиотрофобласта и моноцитов ворсин. Имеет значение также распад капилляров ворсин и эритробластов. В результате среднее количество сосудов на одну ворсину уменьшается с 5.29 ± 0.83 до 2.07 ± 0.68 , число аваскулярных ворсин возрастает с 4.82 ± 0.28 до 14.74 ± 2.31 , и в результате, количество нефункционирующих ворсин превышает 70% (Табл.4.2). Все это приводит к нарушению обмена веществ эмбриона и его гибели.

Из 43 исследованных случаев раннего конфликта ткани эмбриона имелись в 15 (34.88%) случаях. Из них 7 эмбрионов (16.28%) погибли от прямого действия аллогенных антител (апоптоз), а от нарушения обмена (анемия, дистрофические изменения, небольшие некрозы) погибли 8. Желтуха кожи, тканей, органов и мозга у эмбрионов вообще отсутствует, так как билирубин начинает образовываться в печени и появляется в ее протоках у плодов только на 4 месяце развития (Бархина Т.Г., 2006)

7.9.3. Состояние мозга при ГБП Rh⁰D

В упомянутых 2379 случаях перинатальной смерти исследованы мозг и периферическая нервная система в 132 случаях (5.55%) различных форм ГБП, в том числе фетопатия с мацерацией, анемическая, отечная и желтушная. Исследованы ткани спинного мозга и продолговатого мозга, моста, ножек мозга, мозжечка и полушарий мозга (Рис.7.4 – 7.9). Применялись окраски (кроме обзорных) – по Ниссли (Nissl), Перлсу (Perls), выявления судана, миелиновые волокна, олигодендроглию, астроцитарную глию и другие, всего 16 методик.

В качестве контроля провели исследование мозга 5 плодов 32-40 недель развития, умерших от остро развившейся внутриутробной асфиксии. Было уточнено состояние нейронов. Измененные нейроны редки. Гемосидерин и суданофильные вещества не выявляются. Пигмент в нейронах черной субстанции отсутствует, он появляется после рождения. Клетки олигодендроглии, астроциты и кровеносные сосуды без изменений.

Гемолитическая фетопатия с мацерацией ГБП – 22 случая. Мозг представляет бело-розовую бесструктурную влажную массу без желтушной окраски, борозды уплощены, кровоизлияния не определяются. Микроскопически: расширение вен, в них немного эритробластов, некоторые из них в апоптозе, периваскулярный и перицеллюлярный отек. Ядро и цитоплазма нейронов окрашиваются слабо, окраска по Ниссли не определяется, апоптоз нейронов не выявлен (Рис.7.2.2). Гемосидерин отсутствует. Несколько лучше сохраняются нейроны спинного мозга. Исследования показали, что мозг менее подвергается аутолизу при общей мацерации, чем другие органы. Печень, селезенка, поджелудочная железа и другие органы представляют лишь бесструктурную массу, в мозге видны клеточные элементы и их ядра.

Анемическая форма ГБП – 13 случаев. Мозг существенно не изменен, имеется отек оболочек и иногда мелкие кровоизлияния. Микроскопически –

выраженные сосудистые изменения: спазмы артерий, расширение вен, периваскулярный и перичеллюлярный отек, свежие кровоизлияния, множественные тромбы. В нейронах изменения скромные: иногда центральный хроматолит. Количество нейронов не уменьшено, апоптоз их не определяется. Желтуха отсутствует. В целом – умеренное нарушение циркуляции сосудов, гипоксическая энцефалопатия.

Отечная форма ГБП – 38 случаев. Кровоизлияния мелкие и более крупные. Мозг с признаками незрелости, цвет его белый или бледно-розовый. Микроскопические изменения: мелкие группы гиперхромных нейронов во многих участках стволовой части мозга, мозжечка, аммонова рога. Контуров их неровные, ядра и цитоплазма гиперхромные. Иногда встречаются нейроны с хроматолитом, умеренно набухшие или пикнотичные, контуров их неровные, размеры уменьшены, ядра и цитоплазма гиперхромные. Какие-либо включения в клетках отсутствуют. Апоптоз нейронов очень редок. Клетки олигодендроглии и астроциты образуют небольшие цепочки – умеренная пролиферация (Рис.7.2.3). В сосудах дистония, набухшая интима, периваскулярный отек, имеются тромбы, мелкие участки некроза. В периферической нервной системе – без патологических изменений. В целом определяется умеренно выраженная гипоксия вследствие общего нарушения циркуляции. Длительное и значительное действие аллогенных антител, которое вызвало тяжелые и разнообразные изменения органов всего тела, мало отразилось на состоянии мозга.

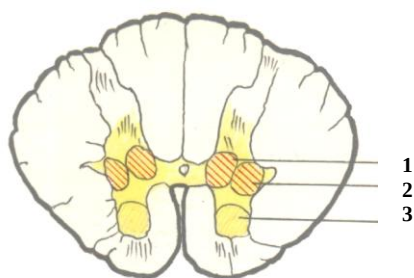
Желтушная форма ГБП – 58 случаев. Изменения различны в зависимости от длительности жизни после рождения и поднимающегося уровня билирубина в крови.

В первые 12 часов количество билирубина в крови 3.75 ± 1.51 мг%. Смерть детей наступает от случайных причин – родовая травма, аспирационная пневмония, порок развития и другие. Происходит сосудистая дистония, венозная гиперемия, периваскулярный отек, тромбы в венах. Мозговые оболочки в некоторых случаях имеют легкое желтое окрашивание. Развиваются ишемические изменения нейронов, большое количество гиперхромных нейронов, то есть гипоксическая энцефалопатия (Рис.7.2.5).

Через 13-36 часов билирубин крови в 14.44 ± 6.3 мг%, не более 21.5 мг%. Характер поражений изменяется. Мозг влажен, цвет белый, слабая желтоватая диффузная окраска имеется у умерших в начале вторых суток. В мозжечке, ядрах стволовой части мозга и спинного мозга нейроны набухают, часть их гибнет, преобразуясь в клетки-тени. Значительного апоптоза нейронов нет. Причина смерти – пневмония, родовые травмы, осложнения при переливаниях крови.

На сроках более 36 часов и до 3 дней уровень билирубина в крови 35.7 ± 5.8 мг%. Смерть наступает от неосложненной билирубиновой энцефалопатии и в половине случаев – в сочетании с пневмонией, пупочным сепсисом, родовой травмой и др. Вес мозга, нормальный у детей до 36 часов, повышается до 100 – 165 г у умерших на 2 – 5 дни. Общая желтуха интенсивна. Ядерная желтуха мозга отмечена у 91.11% детей, умерших после 36 часов. Поражения нейронов, упомянутых выше, более значительны, острое набухание прогрессирует. Глия в этих же зонах пролиферирует.

Рис.7.4. Спинной мозг



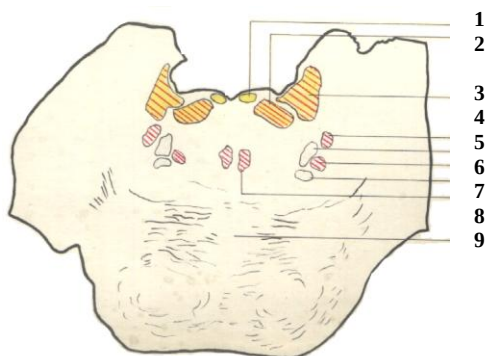
- 1- грудное ядро Кларка,
2 – боковой рог,
3 – передний рог

Рис.7.5. Продолговатый мозг



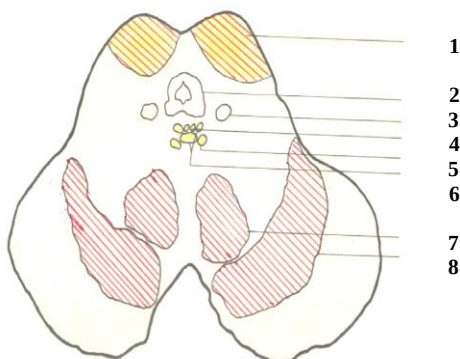
- Ядра: 1 - XII нерва. 2 – промежуточное, 3 - круглого канатика, 4 – X нерва дорзальное, 5 – вестибулярное, 6 – клиновидное, 7 – большое центральное, 8 – нисходящее V нерва, 9 – нижнее центральное, 10 – ободное, 11 – подтройничное, 12 – нижние оливы, 13 – дуговое

Рис.7.6. Мост



- Ядра: 1 – круглого канатика, 2 – VI нерва, 3 – вестибулярные, 4 – V нерва (желатиновая субстанция), 5 – VII нерва, 6 – ретикулярное боковое, 7 – верхняя олива, 8 – ретикулярные покрывающие, 9 – мост

Рис.7.7. Ножки мозга



- Ядра: 1 – четверохолмия (задние), 2 – серое центральное вещество, 3 – дорзальное покрывающее, 4 – Эдinger-Вестфал, 5 – IV нерва, 6 – III нерва, 7 – красное, 8 – черная субстанция

Обозначение цветных окрасок рисунков

Белая: нейроны не окрашены билирубином, без изменений.

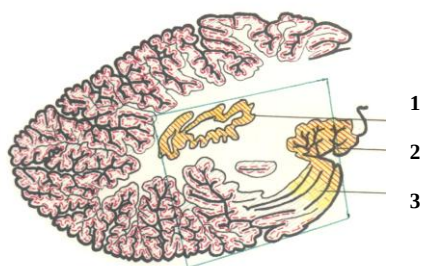
Желтая: билирубиновая окраска нейронов имеется, но существенных патологических изменений нет.

Желтая с красными штрихами: имеется билирубиновая окраска нейронов и значительные патологические изменения вплоть до некроза.

Белая с красными штрихами: нейроны не окрашены билирубином, но имеются значительные патологические изменения.

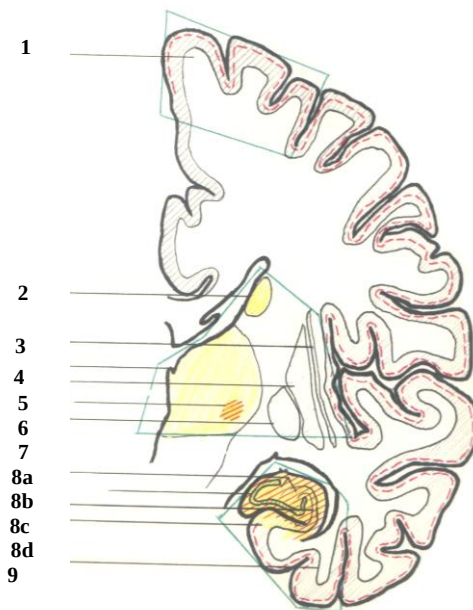
Зеленая линия: ограничивает исследованные участки.

Рис.7.8. Мозжечок



- 1 – зубчатое ядро, 2 - флоккулюс
3 - миндалина

Рис.7.9. Большое полушарие



- 1 - теменная доля, 2 – хвостатое ядро,
3 – ограда, 4 – зрительный бугор, 5 –
скорлупа, 6 – субталамус: ядро Люиса, 7 –
бледный шар, 8 – Аммонов рог (а – зона
H5-H4, b – зубчатая фасция, с - зона H2-H1,
d - подставка), 9 – височная доля

На 4-5 дней уровень билирубина в крови 31.2 ± 3.91 мг%. Причины смерти не изменяются: неосложненная билирубиновая энцефалопатия – в половине случаев, во второй половине – то же, в сочетании с пневмонией, омфалитом, пупочным сепсисом. Изменения в мозгу прогрессируют. Резко поражены некоторые ядра стволовой части мозга и центральных ганглиев, много нейронов гибнет. Тип поражения тот же: острое набухание и распад нейронов. Характерно отсутствие апоптоза нейронов и клеток глии. Происходит значительная пролиферация клеток глии, часть их гибнет. Из 46 умерших в этом и следующем периодах 3 детей умерли на 4-5 день без желтой окраски ядер мозга. Уровень билирубина в крови 18.4 – 20.5 мг%. Изменения мозга аналогичны умершим на 13-36 часах. Причина смерти – крупноочаговая пневмония, билирубиновая энцефалопатия.

На 6-7 дней количество билирубина в крови снизилось до 26.8 ± 2.3 мг%. У погибших на этом фоне острые процессы в мозгу несколько уменьшились, но отмечается значительная убыль нейронов в стволовых ядрах мозга. В легких массивная пневмония.

7.9.4. Состояние мозга при ГБН, вызванной АВО несовместимостью

Дети умерли на 3-9 день. Количество билирубина в крови 29.55 ± 4.31 мг%, незначительно меньше, чем у детей с ГБН Rh⁰D (см. Табл.7.8). У ребенка с только диффузной желтухой мозга количество билирубина в крови 18.3 мг%. Изменения в мозгу аналогичны изменениям при ГБН Rh⁰D, но несколько менее распространены

и менее тяжелые в те же сроки. Значительная пролиферация олигодендроцитов и астроцитов. Апоптоз нейронов незначителен.

Таблица 7.10. Пределы билирубина (в мг%) в крови новорожденных при общей желтухе и билирубиновой энцефалопатии

	Сепсис, другие инфекции, крупные кровоизлияния, атрезия желчных путей, недоношенность	ГБП Rh ⁰ D			ГБН АВО
		Анемическая форма	Отечная форма	Желтушная форма	Желтушная форма
Без общей желтухи	0.8-1.3	0.8-5.2	0.9-1.6	2.2-14.5	-
Диффузная желтуха мозга	7.7-15.1	-	-	17.8-20.5	18.3
Ядерная желтуха мозга	15.0-25.7	-	-	27.1-41.9	25.7-33.4

7.10 Заключение

Проведенные исследования показали отсутствие в желтушной форме ГБН признаков прямого действия аллогенных антител – апоптоза нейронов. Также не обнаружены эти признаки при фетопатии с мацерацией, отежной и анемической формах ГБП. Это подтверждает отсутствие прямого действия аллогенных антител на нейроны при ГБП. Но в раннем аллогенном конфликте, где действуют аллогенные антитела не к Rh⁰D или АВО, а к другому, пока не известному антигену, множественное прямое поражение клеток нервной трубки эмбриона имеются. При обоих вариантах желтушной формы ГБН Rh⁰D и АВО основные повреждения происходят от действия непрямого билирубина. Диффузная желтоватая окраска оболочек мозга может появиться уже через 9 часов после рождения.

У нейронов разных участков мозга чувствительность к непрямому билирубину и к другим патогенам неодинакова. По разному окрашиваются билирубином при желтухе также и разные органы тела, но в мозгу это сложнее. Как показано на Рис.7.4-7.9, а также на Диаграмме 7.1, окраска ядер билирубином и патологические изменения нейронов имеются четырех видов:

- 1) – ядра окрашены билирубином, их нейроны патологически изменены и частью гибнут;
- 2) – ядра окрашены билирубином, но только малая часть нейронов слабо патологически изменена;
- 3) – билирубиновая окраска ядер отсутствует, но часть нейронов патологически изменена;
- 4) – неокрашенные ядра с сохраненными нейронами.

Это показывает, что нейроны мозга новорожденных изменены не только под влиянием непрямого билирубина, но и других факторов. Один из них - аллогенные антитела. Они могут, не возбуждая реакции апоптоза, изменять реактивность нейронов к непрямому билирубину или другим патогенам. Подобный ответ

вызывают токсины микрофлоры при сепсисе в сочетании с ГБН или без нее. Сепсис новорожденных вызывает билирубиновую энцефалопатию при 15 мг% непрямого билирубина в крови, в то время как при аллогенном конфликте – только больше 25 мг%. Еще одним фактором могут быть биохимические особенности нейронов разных ядер мозга, которые могут не воспринимать непрямого билирубина, например, из-за малого количества липидов или обладают достаточной стойкостью к нему.

* * *

При раннем аллогенном конфликте в преэмбриональном и эмбриональном периодах защиту от аллогенных антител осуществляет в некоторой степени фагоцитарная система: инвазивный трофобласт в децидуальной ткани, трофобласт, покрывающий лакуны, и моноциты в ворсинах плацентарного барьера. Они в части случаев защищают эмбрионы от прямого действия антител, вызывающего гибель за несколько часов. Однако защита плацентарного барьера в зоне ворсин относительна: она только задерживает уничтожение капилляров и других тканей ворсин на 2 – 4 недели, а в итоге исключает до 70% ворсин из общего обмена веществ. В результате – разрушение клеток формирующегося мозга, других органов, и эритробласты происходят двумя путями: прямого действия аллогенных иммунных антител – апоптозом, или косвенным действием – разрушением плацентарного барьера. Желтуха и ядерная энцефалопатия отсутствуют.

Поздний аллогенный конфликт возможен при ГБП у плодов 22 недель и старше, когда их иммунная система уже формируется, но ее функции еще не совершенны. В случаях фетопатии с мацерацией атака аллогенных антител столь массивна и быстра (менее одних суток), что никакие иммунные влияния не успевают развиваться, и плод погибает. Не развивается и желтуха.

У новорожденных билирубиновая энцефалопатия встречается не только в аллогенных конфликтах. Желтушное окрашивание и разрушение нейронов в стволовых частях мозга иногда встречается при сепсисе, крупных кровоизлияниях, и у недоношенных. Пока общей желтухи еще нет, уровень билирубина в крови колеблется от 0.8 до 1.3 мг% (Таблицы 7.8, 7.9 и 7.10).

При ГБПН в анемической форме и отечной форме, где происходят длительные и значительные действия Rh^0D антител, желтушной окраски нет. Это связано с тем, что плоды этих форм находятся во внутриутробном состоянии, где непрямого билирубин перерабатывается в печени и выделяется через плацентарный барьер к беременной. В крови плодов с отечной и анемической формами остается при этом незначительное количество билирубина (0.8-5.2 мг%), и желтуха отсутствует (Таблицы 7.8 и 7.10). Сходная ситуация создается в желтушной форме Rh^0D и АВО конфликтов: часть новорожденных погибает в первые сутки, когда билирубин только начал накапливаться в крови, уровень его 2.2-14.5 мг%, но критические уровни для больных ГБН больше: до 15-17 мг% желтушная окраска не возникает, диффузная желтуха проявляется при 17.8-20.5 мг%, а ядерная желтуха мозга – 25.7-41.9 мг% (Таблица 7.10).

Желтушная окраска нейронов (ядерная желтуха мозга) происходит не во всех ядрах даже в стволовой части мозга (Рис. 7.4-7.9). Подобные варианты зависят от определенных причин. Одна из них – **чувствительность клеток к действию патогенов**. Например, при Rh^0D аллогенном конфликте антитела действуют на те клетки, которые содержат RhD антиген. Это эритроциты, гепатоциты и клетки некоторых других органов (П.Н.Косяков, 1975). При АВО конфликте те же клетки и эритроциты, содержат этот антиген. Но при отечной форме ГБП, при которой RhD

антитела долго (недели и даже 2-4 месяца) и умеренно интенсивно действуют на плод, а изменения клеток мозга незначительны, то, по-видимому, эти клетки не содержат RhD антигена. Кроме действия патогенов для восприятия токсичного непрямого билирубина **имеет значение содержание липидов в клетках**. Причина изменений – **токсичность патологических влияний RhD или ABO антител, токсичность микрофлоры, вызвавшей сепсис, или каких-либо других патологических агентов**. Например, для развития диффузной желтушной формы или ядерной желтухи мозга при действии аллогенных антител требуется значительно больше билирубина (соответственно 18-20 мг% для диффузной желтухи и 27-42 мг% для ядерной желтухи), чем при действии токсинов микрофлоры при сепсисе (соответственно 7.7-15 мг% и 15-25 мг%). Это означает, что для возникновения обоих видов желтух мозга (диффузная и ядерная) необходим не только билирубин, но и действие патогенов. Это **сочетанное воздействие патогенов и билирубина** является еще одним условием развития билирубиновой энцефалопатии.

* * *

Rh⁰D поздний аллогенный конфликт, наиболее частый среди народов европейского происхождения, обладает рядом особенностей. В отличие от раннего аллогенного конфликта у эмбрионов и большинства поздних конфликтов, Rh⁰D конфликт представляется в четырех формах, отличающихся одна от другой по течению заболевания, осложнениями и механизмами смерти. Это желтушная форма с двумя вариантами – дородовым (или с анемией) и послеродовым (или без анемии), отечная, анемическая и фетопатия с мацерацией. Для клинического и патологического обозначения различных поздних аллогенных конфликтов (Rh⁰D и другие варианты Rh⁰, ABO и многие другие группы аллогенных конфликтов) принят общий термин: гемолитическая болезнь плода и новорожденного (ГБПН).

Развитие той или иной формы ГБПН определяется большим спектром условий и факторов со стороны беременной и плода. Со стороны беременной – это особенности аллогенных антител. Например, антитела Rh⁰D более патогеничны, вызывают развитие четырех форм ГБПН на различных этапах развития плода, а антитела ABO – только желтушную форму ГБН в родовом периоде. Имеет некоторое значение титр аллогенных антител: чем он выше у беременной, тем возможнее развитие у нее более тяжелых форм ГБПН (Табл.7.3).

У одних и тех же женщин частота тех или иных форм ГБПН изменяется с увеличением количества беременностей (Диаграмма 7.1). Например, у Rh⁰D иммунизированных женщин рождение совершенно здоровых детей после первой беременности снижается, а после пятой беременности прекращается. Количество детей с желтушной формой возрастает от 16.7% при первой беременности до 47.1% при пятой беременности, и потом продолжается около 32-42%. Фетопатия с мацерацией от 2.8% возрастает до 14-28.6%. Анемическая форма после седьмой беременности не наблюдается. Количество отечной формы нарастает от 2.8% при первой беременности до 66.7-69.3% на девятой и следующих беременностях. Эти изменения явно отражают степень иммунизации и усиление аллогенного конфликта: с каждой следующей беременностью возрастает количество тяжелых форм ГБПН (отечная, желтушная и фетопатия с мацерацией), и исчезает форма с менее тяжелым воздействием (анемическая).

Каждая форма чаще встречается в одном определенном периоде беременности (Диаграмма 7.2). В основном на 22-31 неделях развития бывает

фетопатия с мацерацией, на 32-36 неделях главенствует отечная форма, а на 37-40 неделях чаще встречаются два варианта желтушной формы: дородовая – начинается до родов, и послеродовая – начинается во время рождения и продолжается после него. Анемическая форма, самая малочисленная из форм ГБПН, одинаково представлена в двух последних периодах – от 32 недель до рождения. Незначительные морфологические изменения внутренних органов при анемической форме и небольшая степень анемии позволяют полагать, что она является следствием минимального воздействия аллогенных антител в течение ограниченного времени.

Развитие каждой формы ГБПН является результатом нескольких факторов. Это количество аллогенных антител, проникших в плод. Оно складывается из концентрации антител, длительности их поступления и повторности их проникновения через плаценту. Их достоверность повышается с применением комплекса морфологических, иммуногистохимических и клинических данных. Важным фактором является степень развития плода, его возраст и способности к пролиферативным и компенсаторным реакциям. Например, фетопатия с мацерацией наиболее частая в периоде 22-31 недель, когда эти механизмы еще недостаточны, а поступает одноразовая, но значительная доза аллогенных антител. Они вызывают быстрый апоптоз и мацерацию всех органов. Гибель плода наступает в срок менее одних суток.

Действие патогенов во время ГБПН – это комплекс сложных процессов. Только при фетопатии с мацерацией действует единственный патоген – аллогенные антитела. Они, в основном, невысокого титра, но действуют быстро, одновременно большой дозой. В трех других формах ГБПН аллогенные антитела запускают другие патогены, создающие комплекс патологических процессов с различными клиническими проявлениями. Примером такого воздействия является отечная форма. Общий титр проникающих аллогенных антител несколько выше, бывает высокий титр (Табл.7.3), но их проникновение и действие длительно – от нескольких недель до 2-4 месяцев. За это время происходит интенсивное развитие компенсаторных процессов в разных органах. Это образование эритробластов взамен разрушенных эритроцитов и ранее произведенных эритробластов. Оно происходит не только в костном мозгу, восстанавливается образование эритробластов, прекратившееся в конце I триместра, также в печени и в селезенке. Оба органа резко увеличиваются, а селезенка в некоторых случаях достигает веса 100-130 г – почти веса взрослого человека. Печень и почки усиленно перерабатывают и обезвреживают непрямой билирубин из разрушенных эритроцитов и эритробластов и выделяют их остатки в кровотоки беременной. Значительна гиперплазия миокарда. Но все же развитие очень большого отека свидетельствует об истощении возможностей самозащиты организма плода. Угнетается лимфоидная система, что приводит к тому, что даже такие представители микрофлоры как сапрофиты могут вызвать воспаления: пневмонию, омфалит, менингит, сепсис. Нефункциональные легкие атрофируются, так что при рождении они не способны обеспечить начало дыхания. А огромная печень и селезенка, в сочетании с такими же отеками могут задержать сам процесс рождения или вызвать разрыв своих тканей.

Анемическая форма ГБПН возникает при действии малой дозы аллогенных антител, имеющих в основном малый (1:2 – 1:16) титр – 76.9%. Поэтому продолжительность действия умеренно долгая. Происходит угнетение лимфоидной системы, а также атрофия легких. Следствие этого – пневмония и сепсис.

Желтушная форма ГБН возникает при рождении плода. Это время разрыва связей плода и родильницы, и прекращения выделения билирубина в ее организм. Основным патогеном в этом варианте является токсическое действие непрямого билирубина на мозг, печень и почки. Наиболее тяжело повреждается мозг - развивается билирубиновая энцефалопатия. На мозг действуют несколько патогенов. Ведущую роль играет непрямого билирубин, он создает ядерную желтуху – разрушение и окрашивание нейронов во многих ядрах ствола мозга, мозжечка и некоторых участков полушарий мозга. Сами по себе аллогенные антитела при ГБН Rh^oD не вызывают разрушения нейронов: при остальных формах ГБН, даже при отечной форме, когда антител много и они действуют долго, существенных повреждений нейронов не возникает. Но в развитии ядерной желтухи большую роль играют еще два фактора. Один из них - токсичность патогенов, сопровождающих непрямого билирубин: аллогенные антитела при ГБН, бактериальные токсины при сепсисе, при котором тоже бывает билирубиновая энцефалопатия, и другие. Меньшая токсичность аллогенных антител по сравнению с высокой токсичностью бактерий, вызвавших сепсис, выражается в том, что ядерная желтуха при ГБН возникает при уровне непрямого билирубина в крови только больше 25 мг%, а при сепсисе достаточен уровень 15 мг%. Другой фактор заключается в биохимических особенностях нейронов некоторых ядер и их неодинаковой чувствительности к токсическим воздействиям непрямого билирубина. В результате, некоторые ядра с неокрашенными билирубином и существенно не измененными нейронами находятся рядом с ядрами, нейроны которых имеют яркий оранжево-желтый цвет и тяжело изменены (Рис. 7.4-7.9).

Выделение двух вариантов желтушной формы, частой и с благоприятным прогнозом, имеет клиническое значение. Особенно при рождении ребенка с послеродовой ГБН патологические изменения выражены еще слабо, есть время для соответствующих лечебных мероприятий. Состояние новорожденных обоих вариантов, в том числе их органов иммунной защиты, печени, сердца, установить не сложно (Табл.7.7-7.8). Это дает четкие рекомендации для применения соответствующих лечебных мероприятий.

Аббревиатура

В-клетки, Т-клетки	В-лимфоциты, Т-лимфоциты
BBB – blood brain barrier	Гемато-энцефалический барьер
BFU – burst forming unit	Предшественники клеток крови
BFU-E –burst forming unit erythroid	Предшественники эритробластов
CD – cluster of differentiation	Группа дифференцировки рецепторов
DAF – decay acceleration factor	Фактор, ускоряющий разрушение
DNA	Дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК), компоненты ядра клетки
Fab	Молекулы иммуноглобулинов, взаимодействующие с антигеном в цитоплазме клетки
Fc	Молекулы иммуноглобулинов, взаимодействующие с антигеном на оболочке клетки
Fas, FasLigand, TNF, p53, bcl2	Компоненты, участвующие в апоптозе
Fc gamma RII, RIII, (CD32, CD16)	Фагоциты–рецепторы иммуноглобулинов G
HDFN	ГБПН – гемолитическая болезнь плода и новорожденного
HDF	ГБП – гемолитическая болезнь плода
HDN	ГБН – гемолитическая болезнь новорожденного
HIV –human immunodeficiency virus	ВИЧ – иммунодефицитный вирус человека
HLA-D, HLA-G	Главные комплексы гистосовместимости 2 класса, см. МНС
Igs	иммуноглобулины
IgG, IgA, IgM	Иммуноглобулин G или A, или M
IL	Интерлейкины – факторы, осуществляющие взаимодействие между клетками при иммунных или воспалительных процессах
IL2R α (CD25)	Рецептор интерлейкина 2
IUGR –intrauterine growth retardation	Внутриутробная задержка развития
J- joining chain	J-цепь – рецептор, который вводит в клетки вещества, особенно иммуноглобулины - эндоцитоз
Ki67	Выявляет пролиферацию, клетки, готовые к делению
MCP – membrane cofactor protein	Белок, разрушающий оболочку
МНС –major histocompatibility complex	Главный комплекс гистосовместимости – комплекс генов, уникальных для каждого

	организма. Выделяются два класса: МНС-I (HLA-A, HLA-B, HLA-C) и МНС-II (HLA-D и HLA-G – несколько вариантов)
NK – natural killers	Группа лимфоцитов, выполняющих иммунные клеточные реакции
PR – pregnancy rests	Прекращение беременности
Rh ^o D	Один из вариантов антигенов, наиболее часто вызывающих ГБПН
RNA	Рибонуклеиновая кислота (РНК)
RPL – recurrent pregnancy loss	Повторная утрата беременности
SC	СК - Секреторный компонент, часть полииммуноглобулинового рецептора, выполняет экзоцитоз – выделение иммуноглобулинов из клетки
SIS	СИС – секреторная иммунная система
TOP – termination of pregnancy	Прерывание беременности
VEGF	Фактор роста эндотелия сосудов
VPF	Фактор сосудистой проницаемости

Маркерные антигены CD

CD3	Т лимфоциты
CD4	Т хелперы
CD8	Т цитотоксические лимфоциты, киллеры
CD14, CD33, CD68, CD111	Разные макрофаги, моноциты, промоноциты, миеломоноцитарные клетки
CD16, CD32	Рецепторы Fc gamma RIII, RII
CD20	В лимфоциты, но не плазматические клетки
CD25	Интерлейкин IL2R α , факторы роста Т лимфоцитов
CD31	Эндотелий, макрофаги, киллеры
CD34	Миеломоноцитарные, лимфоидные стволовые клетки, эндотелий капилляров
CD45LCA	Общий антиген лейкоцитов, моноцитов взрослых, но отрицательный в эмбрионах
CD56	Маркер натуральных киллеров и отчасти лимфоцитов CD3
CD79A	В лимфоциты и плазматические клетки

Биологические и медицинские термины

Acrosome -	акросома – оболочка головки сперматозоида, преодолевающая три оболочки яйцеклетки при оплодотворении
Allele -	аллель- несколько генов, занимающих одинаковую позицию (локус)
Allogenic -	аллогенный – относящийся к другой особи одного вида, но аллели их различаются
Anencephaly -	анэнцефалия - отсутствие структур мозга и костей свода черепа
Anoxia -	аноксия – отсутствие кислорода в артериальной крови или тканях, или в воздухе
Apocrine -	выделение секрета железы с разрушением верхней части клеток
Apoptosis -	апоптоз – особая гибель клеток, регулируемая при замене клеток
Ataxia -	атаксия – неспособность к координации мышц при произвольных движениях
Athetosis -	атетоз – устойчивые медленные вычурные непроизвольные движения
Avascular -	аваскулярный – без кровеносных или лимфатических сосудов
Coagulation -	коагуляция – процесс перехода состояния из жидкого в твердое, свертывание белков
Coelom -	целом – полость вне листков зародыша или внутри его
Colliquation -	колликвация – отек, накопление жидкости
Colostrums -	молозиво
Corona radiata -	лучистый венец вокруг прозрачной оболочки яйцеклетки, содержит фолликулярные клетки

Definitiv -	определенный, окончательный
Ductus thyroglossus -	проток щитовидной железы
Dystonia -	дистония – патологическое нарушение тонуса любой ткани
Eccrine -	(см) merocrine
Embrio -	эмбрион человека, развивающийся с 3 по 8 неделю после оплодотворения
Endocytosis -	эндоцитоз – процесс транспорта веществ в клетку
Exocytosis -	экзоцитоз – процесс выделения веществ из клетки
Fertilization -	фертилизация - оплодотворение
Fetus -	плод человека, развивается с 9 недели беременности до рождения
Fibrosis -	фиброз – замещение соединительной тканью в результате некроза или других изменений тканей
Fragmentation -	фрагментация – раздробление, разделение на части
Gamone -	гормоны оплодотворения
Germ; germinal –	зародыш человека до начала эмбрионального периода
Gestosis –	зародышевый гестоз, токсикоз беременности
Gonad -	половые железы – мужские и женские
Holocrine –	выделение содержимого клетки при полном ее разрушении
Implantation -	прикрепление зародыша к эндометрию беременной
Lupus erythematosus -	красная волчанка
Membrana fertilizata –	оболочка оплодотворения, превращенная из zona pellucida (см)
Merocrine -	при секретировании клетки вещества в ней остаются сохранными
Mesenchima -	мезенхима – зачаточная часть эмбриона, которая в последующем превращается в различные органы
Mesoderm -	мезодерма – средний из трех первичных слоев зародыша, дает начало соединительной ткани, мышцам тела, кровеносным и лимфатическим сосудам, части уrogenитальной системы
Mesonephros -	мезонефрос – вторичные почки, их проток Wolff преобразуется в семявыносящий проток у мужчин
Metanephros –	метанефрос – формирующиеся постоянные почки
Missed abortion –	несостоявшийся выкидыш погибшего плода
Morula -	морула – группа клеток в делящейся яйцеклетке

Notochord -	у эмбрионов – осевая волокнисто-клеточная структура, основа закладки позвоночника
Perivillous -	околоворсинчатый
Petrification –	петрификация – обызвествление ткани, например, после некроза
Phagocyte -	фагоцит, клетка, поглощающая вредные или ненужные частицы, общее название для макрофагов, моноцитов, промоноцитов
Phagolysosome –	фаголизосомы – фагоцитируемые частицы, расщепляющиеся в лизосоме фагоцита
Polyspermia -	проникновение более одного сперматозоида в яйцеклетку
Primordial –	примордиальный – зачаток будущего органа
Production of conception -	результат зачатия
Proliferation -	пролиферация – рост за счет размножения клеток
Pronephros -	пронефрос - первичные почки, не функционируют и рано рассасываются, канальцы, проходящие около пронефрос (парамезонефротические протоки Muller) превращаются в последующем в женские половые органы – маточные трубы, а сливаясь вместе – в матку и в верхнюю часть влагалища
Pronucleus –	пронуклеус – каждая из двух половых клеток – женская яйцеклетка и мужской сперматозоид в процессе синкарион (см)
Pycnosis –	плотный, сгущенный
Rete testis -	сеть яичка
Stomodeum –	стомодеум – ротовая ямка, первичный рот
Synkaryon -	синкарион – ядро нового организма, образующееся при слиянии двух пронуклеус, собственно оплодотворение
Syndrome Crigler-Najjar -	синдром Криглер-Найяра: врожденная, наследуемая негемолитическая желтуха
Trabecula -	трабекула – перегородка из плотной ткани
Tromb -	сгусток крови в сердце или в сосудах
Trophoblast –	трофобласт – наружная клетка зародыша, возникает на стадии бластоцисты. Обеспечивает многосторонний контакт зародыша с организмом беременной. Выделяют 5 вариантов трофобласта. Три из них находятся на поверхности ворсин. Синцитиотрофобласт и цитотрофобласт обеспечивают двухсторонний обмен беременной и зародыша. Пролиферативный трофобласт группами на ворсинах образует по потребности вневорсинные трофобласты: лакунный и инвазивный. Лакунный

	трофобласт покрывает поверхность децидуальной ткани беременной, затрудняя проникновение патогенов в зародыш. Инвазивный трофобласт глубоко проникает в децидуальную ткань. Он не только разрушает участок для размещения, но является мощным фагоцитом против различных патогенов.
TUNEL -	пероксидазная реакция апоптоза
Vas deferens -	семявыносящий проток
Vasculopathy -	васкулопатия – любое заболевание кровеносных сосудов
Villouse -	ворсинчатый
Zona pellucida -	прозрачная оболочка вокруг яйцеклетки

Литература

- 1 Бархина Т.Г. Органы пищеварительной системы. В кн. Внутриутробное развитие человека. МДВ, Москва, 2006, 335-359
- 2 Вермель С.Б. Желтуха новорожденных. Москва, 1898
- 3 Волощук И.Н. Патология пренатального периода. В кн. Патология: руководство. Москва, 2002, 635-636
- 4 Галактионов В.Г., Графические модели в иммунологии. Москва, Медицина, 1986
- 5 Гуревич П.С. Патогенез желтух новорожденных. Казанский медицинский журнал, 1966, 3; 79-85
- 6 Гуревич П.С., Бен-Гур Г., Шперлинг И.Д., Молдавский М.И., Зусман И.М. Патоморфология плацентарного барьера человека в I триместре беременности при воспалительных заболеваниях родовых путей. Архив патологии, Москва, 2005, 67; 6-9
- 7 Косяков П.Н. Изоантиген и изоантитела в норме и патологии, Москва, «Медицина», 1975
- 8 Кулаков В.И., Козлов А.А., Кондриков Н.И. Акушерство и гинекология. Аборт самопроизвольный. В кн. Российский терапевтический справочник, Москва, ГЭОТАР-медиа, 2005, 678-690
- 9 Курило Л.Ф., Адамян Л.В. Морфологическая дифференцировка гонад. В кн. Внутриутробное развитие человека, МДВ, Москва, 2006, 328-334
- 10 Милованов А.П., Долженко Т.А., Давтян Е.А. Морфологическая диагностика и патогенез неразвивающейся беременности при антифосфолипидном синдроме. Архив патологии, Москва, 2005, 67; 9-13
- 11 Милованов А.П., Савельев С.В., Большакова Г.Б. Эмбриогенез. Самитные стадии. В кн. Внутриутробное развитие человека. МДВ, Москва, 2006, 93-125
- 12 Милованов А.П., Савельев С.В. Рациональная периодизация и методические аспекты эмбриологии. В кн. Внутриутробное развитие человека, МДВ, Москва, 2006, 21-22
- 13 Рунге М. Болезни первых дней жизни ребенка. СПб, 1888
- 14 Рябчиков О.П., Хайруллин Р.М., Хлыстова З.С., Шмелева С.П. Кроветворение. В кн. Внутриутробное развитие человека, МДВ, Москва, 2006, 278-296
- 15 Сидельникова В.М. Привычная потеря беременности, (Recurrent pregnancy loss) Москва, 2002
- 16 Улумбеков Э.Г., Челышев Ю.А. Гистология: введение в патологию. М., ГЭОТАР, 1997
- 17 Хлыстова З.С. Иммунная система. В кн. Внутриутробное развитие человека, МДВ, Москва, 2006, 254-277
- 18 Штыцко Э.Е. Поздняя фетопатия без отеков и желтухи. Архив гистологии, Москва, 1965, 27, 3; 60-65

- 19 Abe N., Katamura K., Shintakci N. Prostaglandin E2 and IL-4 provide naïve CD4 + T cells with distinct inhibitory signals for priming of JFN production. *Cell. Immunol.*, 1997; 181, 86-91
- 20 Abrahams V.M., Kim Y.M., Straszewski S.L., Romero R., Mor G. Macrophages and apoptotic cell clearance during pregnancy. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2004A, 51; 275-282
- 21 Abrahams V.M., Straszewski-Chavez S.L., Guller S., Mor G. First trimester trophoblast cells secrete Fas ligand which induced immune cell apoptosis. *Mol. Hum. Reprod.* 2004B, 10; 55-61
- 22 Ackerman J., Gonzalez E.F., Gilbert-Barness E. Immunologically studies of the placenta in maternal connective tissue disease. *Pediatr. Dev. Pathol.*, 1999, 2; 19-24
- 23 Adolfsson A., Larsson P.G., Cumulative incidence of previous spontaneous abortion in Sweden in 1983-2003: a register study. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 2006; 85: 741-745
- 24 Aherne W., Dunnill M.S. Quantitative aspects of placental structure, *J. Pathol. Bacteriol.* 1966, 91; 123-128
- 25 Allison J., Georgiou H.M., Strasser A., Vaux D.L. Transgenic expression of CD95 ligand of islet cells induced a granulocytis infiltration but does not confer immune privilege upon islet allografts. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997, 94; 3913-3949
- 26 Asma G.E.M., van den Bergh R.L., Vossen J.M. Development of pre-B and B-lymphocytes in human fetus. *Clin. Exp. Immunol.* 1984, 56; 407-414
- 27 Austgulen R. Recent knowledge on mechanisms underlying development of pre-eclampsia. *Tidsskr Nor Laegeforen*, 2004, 124; 21-24
- 28 Bauer S., Polliheimler J., Hartmann J., Musslein P., Aplin J.D., Knofler M. Tumor necrosis factor- α inhibits trophoblast migration through elevation of plasminogen activator inhibitor-1 in first trimester villous explant cultures. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004, 89; 812-822
- 29 Beer A.E., Kwak J. Reproductive medicine program finch university of health science, Chicago, 2000
- 30 Ben-David G., Sheiner E., Levy A., Erez O., Mazer M. An increased risk for non allo-immunization related intrauterine fetal death in RhD-negative patients. *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med.*, 2008, 21; 255-259
- 31 Ben-Hur H., Gurevich H., Berman V., Tchanyshev R., Gurevich E., Zusman I. The secretory immune system as part of the placental barrier in the second trimester of pregnancy in humans. *In vivo*, 2001, 15; 429-436
- 32 Ben-Hur H., Gurevich P., Elhayany A., Moldavsky M., Shvidel L., Shezen E., Shumlin H., Zusman I. Secretory immune system in human embryonic and fetal development: joining chain and immunoglobulins transport. (Review). *Intern. J. Molec. Med.* 2004, 14; 35-42
- 33 Ben-Hur H., Gurevich P., Elhayany A., Avinoach I., Shneider D.F., Zusman I. Transport of maternal immunoglobulins through the human placental barrier in normal pregnancy and during inflammation. *Intern. J. Molec. Med.* 2005, 16; 401-407
- 34 Besredka A. De la vaccination contre les etats typhoides par la voie buccale. *Annls. Inst. Pasteur, Paris*, 1919, 33; 8820
- 35 Blackall D.P., Pesek G.D., Montgomery M.M., Oza K., Arndt P.A., Garratty G., Shancheranghi A., Denomme G.A., Hemolytic disease of the fetus and newborn

- due to anti-Ge-3: combined antibody-dependent hemolysis and erythroid precursor cell growth inhibition. *Am. J. Perinatol.* 2008, 25; 541-545
- 36 Bosman F.T., Visser B.C., van Oeveren J. Apoptosis: pathophysiology of programmed cell death. *Pathol. Res. Pract.* 1996, 192; 676-683
 - 37 Bowman J.M. Alloimmune haemolytic disease of the newborn. In: Williams W., Beutler E., Erslev A.J., Lichtman M.A. eds. *Hematology*, 4-th ed., N-Y., McGraw-Hill, 1990, 687-693
 - 38 Bowman J.M. Maternal isoimmunization and fetal haemolytic disease. In: Reece E.A., Hobbins J.C., Mahoney M.J., Petrie R., eds. *Medicine of the Fetus and Mother*, N-Y., Lippincott, 1992, 1152-1182
 - 39 Branch D.W., Peaceman A.M., Druzin M. et al., A multicenter, placebo-controlled pilot study of intravenous immune globulin treatment of antiphospholipid syndrome during pregnancy. The pregnancy loss study group. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2000, 182; 122-127
 - 40 Brandtzaeg P. Molecular and cellular aspects of secretory immunoglobulin system. *Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand.* 1995, 103; 1-19
 - 41 Brandtzaeg P. The human intestinal immune system: basic cellular and humeral mechanisms, *Baillieres Clin. Rheumatol.*, 1996, 10; 1-18
 - 42 Brandtzaeg P. Mucosal immunity in the female genital tract. *J. Reproduct. Immunol.* 1997, 36; 23-28
 - 43 Brandtzaeg P, Berstad A.E., Farstad I.N., Haraldsen G., Helgeland L., Jahnsen F.L., Johansen F.E., Natvig I.B., Nilsen E.M., Rugtveit J. Mucosal immunity – a major adaptive defense mechanism, *Behring, Inst.Milt.*, 1997, 98; 1-25
 - 44 Bright N.A., Ockleford C.D., Anvaz M. Ontogeny and distribution of Fc gamma receptors in the human placenta: transport or immune surveillance? *J.Anat.* 1994, 184; 297-308
 - 45 Brocklenhurst P., French R. The association between maternal HIV infection and perinatal outcome: a systematic review of the literature and metaanalysis. *Br. J. Obstet. Gynecol.* 1998, 105; 836-848
 - 46 Bukovsky A. Immune system involvement in the regulation of ovarian function and augmentation of cancer. *Microscopy research and technique*, 2006, 69; 482-488
 - 47 Bulla R., Bossi F., Radillo O., de Seta F., Tedesco F. Placental trophoblast and endothelial cells as target of maternal immune response. *Autoimmunity*, 2003, 36;11-18
 - 48 Bulmer J.N., Johnson P.M. Macrophage population in the human placenta and amniochorion. *Clin. Exp. Immunol.* 1984, 57; 393-403
 - 49 Burgio G.R., Ugazio A.G., Notarangelo L.D. Immunology of the neonate. *Curr.Opin. Immunol.*, 1990, 2; 770-776
 - 50 Burk M.R., Troeger C., Brinkhaus R., Holzgreve W., Hahn S. Severely reduced presence of tissue macrophages in the basal plate of pre-eclamptic placentae. *Placenta*, 2001, 22; 309-316
 - 51 Burton G.J., Janniaux E. Placental oxidative stress: from miscarriage to pre-eclampsia. *J. Soc. Gynecol. Invest.* 2004, 11; 342-345
 - 52 Carocella E.D. HLA-G: fetomaternal tolerance. *C.R.Acad.Sci III*, 2000, 323; 675-680
 - 53 Carp H.J.A., Asherson R., Shoenfeld Y. The role of intravenous immunoglobulin in pregnancies complicated by the antiphospholipid syndrome. *J. Clin. Rheumatol.*, 2001, 7; 291-294

- 54 Carp H.J.A. Intravenous immunoglobulin: effect on infertility and recurrent pregnancy loss. IMAJ (Israel Med. Assoc. J.), 2007, 9; 877-880
- 55 Cetin I., Foidart J.M., Miozzo M., Raun I., Jansson T., Tsatsaris V., Reik W., Cross J., Hauguel-de-Mouzon S., Illsley N., Kingdom J., Huppertz B. Fetal growth restriction: a workshop report. Placenta, 2004, 25; 753-757
- 56 Chaddha V., Viero S., Huppertz B., Kingdom J. Developmental biology of the placenta and origins in sufficiency. Seminar Fetal & Neonatal Medicine, 2004, 9; 357-369
- 57 Chan C.C., Lao T.T., Cheung A.N. Apoptosis in human placenta. Am. J. Obstet. Gynecol, 1998, 179; 1377-1378
- 58 Chan C.C., Lao T.T., Cheung A.N. Apoptotic and proliferative activities in first trimester placenta. Placenta, 1999, 20; 223-227
- 59 Chen H.L., Yang Y.P., Hu X.L., Yelavarthi K.K., Fishback J.L., Hunt J.S. Tumor necrosis factor alpha mRNA and protein are present in human placental and uterine cells at early and late stages of gestation. Am. J. Pathol., 1991, 139; 327-335
- 60 Chumbley G., King A., Holmes N., Loke Y.W., In situ hybridization and northern blot demonstration of HLA-G mRNA in human trophoblast populations by locus-specific oligonucleotide. Hum. Immunol., 1993, 37; 17-22
- 61 Clark D.A. Is there any evidence for immunologically mediated or immunologically modifiable early pregnancy failure? J. Assist. Reprod. Genet., 2003, 20; 63-72
- 62 Clark D.A., Coulam C.B., Stricker R.B. Is intravenous immunoglobulin (IVIg) efficacious in early pregnancy failure? A critical review and meta-analysis for patients who fail in vitro fertilization and embryo transfer (IVF). J. Assist. Reprod. Genet., 2006, 23; 1-13
- 63 Cleveband M.G., Baicos M.A., Pyron D.L., Rajaraman S., Goldblum R.M. Characterization of secretory component in amniotic fluid. J. Immunol. 1991, 147; 181-188
- 64 Contini P., Ghio M., Poggi A., Filaci G., Indiveri S., Ferrone S., Puppo F. Soluble HLA-A,-B,-C and G molecules induce apoptosis in T and NK CD8+ cells and inhibit cytotoxic T cell activity through CD8 ligation. Eur. J. Immunol. 2003, 33; 125-134
- 65 Cooper T.G. Immunology of epididymis. Andrologia, 1999, 31; 322-326
- 66 Corbeil L.B., Anderson M.L., Corbeil R.R., Eddow I.M., Bon Durant R.H. Female reproductive tract immunity in bovine trichomoniasis. Am. J. Reprod. Immunol. 1998, 39; 189-194
- 67 Correia-da-Silva G., Bell S.C., Pringle J.H., Teixeira N.A. Patterns of uterine cellular proliferation and apoptosis in the implantation site of the rat during pregnancy. Placenta, 2004, 25; 538-547
- 68 Cortey A., Brossard Y., Beliard R., Bourel D. Prevention of fetomaternal rhesus- D allo-immunization. Perspectives. J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod. (Paris), 2006, 35 (1 Suppl), IS 119-125
- 69 Cotoruelo C., Buendi C., Garcia Borrás S., Di Monaco R., Racca A. Early detection of RhD status in pregnancies at risk of hemolytic disease of the newborn. Clin. Exp. Med., 2009, 2; 77-83
- 70 Cotran R.S., Kumar V., Collins T. (edits) Robbins pathologic basis of disease, 6 ed., Saunders Co, Philadelphia-London, 1999
- 71 Coulam C.B., Krysa L., Stern J.J., Bustillo M. Intravenous immunoglobulin for treatment of recurrent pregnancy loss. Am. J. Reprod. Immunol. 1995, 34;

- 333-337
- 72 Cowchock S. Treatment of antiphospholipid syndrome in pregnancy. *Lupus*, 1998, 7; suppl.2; S95-S98
 - 73 Crocker J.P., Tanner O.M., Myers J.E., Bulmer J.N., Walraven G., Baker P.N. Syncytiotrophoblast degradation and the pathophysiology of the malaria-infected placenta. *Placenta*, 2004, 25; 273-282
 - 74 Dacie J.V., Levis S.M. *Practical haematology*. London, Churchill Livingstone, 1991, 180-195
 - 75 Darstenius, *Observatic de foetu hydropico*. Marburg, 1684, quotation from Martius G., *Die pathogenese des morbus haemolyticus neonatorum*, Stuttgart, 1956
 - 76 Daya S., Sabet L. The use of cytokeratin as a sensitive and reliable marker for trophoblastic tissue. *Amer.J.Clin.Pathol.*, 1991, 95; 137-141
 - 77 Daya S., Gunby J., Clark D.F. Intravenous immunoglobulin therapy for recurrent spontaneous abortion: a meta-analisis. *Am. J. Reprod. Immunol.* 1998, 39; 69-76
 - 78 Dealtry G.B., O' Farrell M.K., Fernandez N. The Th2 cytokine environment of the placenta. *Arch. Allergy Immunol*, 2000, 123; 107-112
 - 79 Dendrinios S., Makrakis E., Botsis D., Chassiakos D., Baka S., Creatsas G. A study of pregnancy loss in 352 women with recurrent miscarriages. *Arch. Gynecol. Obstet.*, 2005, 271; 235-241
 - 80 Diamond L., Blackfan E., Baty I. Erythroblastic fetalis and its association with neonatorum and anemia of the newborn. *J. Pediatrics*, S.Louis, 1932, 1; 269-281
 - 81 Dobbs D. *Diagnostic immunohistochemistry*, 2 edit., Chrchill Livingstone, Elsevier 2006
 - 82 Drews U. *Color atlas of embryology*, George Thieme Verlag Stuttgar-New York, 1995
 - 83 Dricot J.F., Minor J.M., Schaaps J.R., Dewez P., Foidart J.M. Fetal RhD in maternal plasma in prenatal follow-up. *Rev. Med. Liege*, 2006, 61; 820-824
 - 84 Dziegielewska K.M., Ek J., Habgood M.D., Saunders N.R. Development of the chorioid plexus. *Microscopy research and technique*, 2001, 52; 5-20
 - 85 Emancipator S.N., Mestecky J., Lamm M.E. IgA nephropathy and related disease. In: *Mucosal immunology*, P.L.Ogra, M.E.Lamm, J.R.McGhee, J.Mestecky, W.Strober, J. Bienenstock (eds.), 2 edit., Academic Press, San Diego, 1999, 1365-1380
 - 86 Evain-Brion D. The two differentiation pathways of the human trophoblast. *Gynecol. Obstet. Fertil.* 2001, 29; 497-505
 - 87 Falco de M., Penta R., Laforgia V., Cobellis L., de Luca A. Apoptosis and human placenta: expression of proteins belonging to different apoptotic pathways during pregnancy. *J. Experimental Clinic: Cancer Research*, 2005, 24; 25-33
 - 88 Fenichel P., Cervoni F., Donzeau M., His B.L. Expression and role of Complement regulatory proteins on human gametes and preimplantation embryos. *Contracept Fertil Sex*, 1995, 23; 576-580
 - 89 Filiushkin I.V., Ivanov A.N., Leshchenko M.V., Makashina O.M., Kashirin V.S., Stetsenko A.V., Gruden M.A., Shumova A.E., Belchenko A.N. Several parameters of the state of the nervous, immune and endocrine system in newborn rats exposed to irradiation during the preimplantation period of embryogenesis. *Radiat. Biol. Radioecol.* 1998, 38; 15-19

- 90 Fisher S.J. The placental problem: linking abnormal cytotrophoblast differentiation to the maternal symptoms of pre-eclampsia. *Reprod. Biol. Endocrinol.*, 2004, 2; 53-61
- 91 Frangsmur L., Baranov V., Nagaeva O., Stendal U., Kjellberg L., Mincheva-Nilsson L. Cytoplasmic microvesicular from of FasLigand in human early placenta: switching the tissue immune privilege hypothesis from cellular to vesicular level. *Mol. Hum. Reprod.*, 2005, 11; 35-41
- 92 Gammern A.J.van, Dverbeeke M.A., Idema R.N., van Beek R.H., Ten Kate-Booji M.I., Ermens A.A. Hemolytic disease of the newborn because of rare anti-vel. *Transfus. Med.* 2008, 18; 197-198
- 93 Gao F., Fu G.Q., Ding F., Liu Y.X. Apoptosis during placentation. *Sheng Li Xue Bao (China)*. 2001, 53; 409-413
- 94 Garcia-Lloret M.I., Yui J., Winkler-Lowen B., Guilbert L.J. Epidermal growth factor inhibits cytokine-induced apoptosis of primary human trophoblasts. *J. Cell. Physiol.* 1996, 167; 324-332
- 95 Garcia-Lloret M.I., Winkler-Lowen B., Guilbert L.J. Monocytes adhering by LFA-1 to placental syncytiotrophoblasts induces local apoptosis via release of TNF-alfa. A model for hematogenous initiation of placental inflammations. *J. Leukoc. Biol.* 2000, 68; 903-908
- 96 Genbacev O., DiFederico E., McMaster M., Fisher S.J. Invasive cytotrophoblast apoptosis in pre-eclampsia. *Hum. Reprod.* 1999, 14; suppl. 2; 59-65
- 97 George L., Mills J.L., Johanson A.L., Nordmark A., Olander B., Granath E., Cnattingins S. Plasma folate levels and risk of spontaneous abortion. *JAMA*, 2002, 288; 1867-1871
- 98 Girardi G., Salmon J.B. The role of complement in pregnancy and fetal loss. *Autoimmunity*, 2003, 36; 19-26
- 99 Goldblum R.M., Hansen L.A., Brandtzaeg P. The mucosal defense system. In: E.R.Stein (ed.), *Immunology Disorders in Infants and Children*, Saunders Publ. Co., Philadelphia, 1996, 159
- 100 Goldman-Wohl D.S., Ariel J., Greenfield C., Hanoch I., Yagel S. HLA-G Expression in extravillous trophoblasts is an intrinsic property of cell differentiation: a lesson learned from ectopic pregnancies. *Mol. Human Reprod.* 2000, 6; 535-540
- 101 Goldman-Wohl D.S., Ariel J., Greenfield C., Hanoch I., Yagel S. Examination of distinct fetal and maternal molecular pathways suggests a mechanism for the development of pre-eclampsia. *J. Reproductive Immunology* 2007, 76; 54-60
- 102 Greenenbaum E. Cytologic identification of oocytes in ovarian-cyst aspirates. *New England J.Med.*, 1998, 339; 9-16
- 102 Gross J.G. The genetics of pre-eclampsia: a feto-placental or maternal problem? *Clin. Genetic.*, 2003, 64; 96-103
- 104 Guleria I., Sayegh M.H. Maternal acceptance of the fetus: true human tolerance. *J. Immunol.* 2007, 178; 3345-3352
- 105 Guller S., LaChapelle L. The role of placental FasLigand in maintaining immune privilege at maternal-fetal interfaces. *Semin. Reprod. Endocrinol.* 1999, 17; 39-44
- 106 Gurevich P., Czernobilsky B., Ben-Hur H., Nyska A., Zuckerman A., Zusman I. Pathology of lymphoid organs in low birth weight human fetuses subjected to antigen-induced influences. *Pediatr. Pathol.*, 1994; 14; 679-693
- 107 Gurevich P., Ben-Hur H., Czernobilsky B., Nyska A., Zuckerman A., Zusman I. Pathology of lymphoid organs in low birth weight infants subjected to antigen-

- related diseases. *Pathology*, 1995; 27; 121-126
- 108 Gurevich P., Erina S., Gershon S., Zusman I. The role of the fetal immune system in the pathogenesis of RhD – hemolytic disease of newborns, *Human antibodies* 1997, 8; 76-89
 - 109 Gurevich P., Ben-Hur H., Moldavsky M., Szvalb S., Shperling I., Zusman I. An immunohistochemical study of the secretory immune system in fetal endocrine glands and their precursors. *Early Pregnancy*, 2001A; 5; 191-200
 - 110 Gurevich P., Ben-Hur H., Berman V., Moldavsky M., Szvalb S., Zusman I. Immunoprotection of gonads and genital tracts in human embryos and fetuses: immunohistochemical study. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2001B, 46; 381-385
 - 111 Gurevich P., Ben-Hur H., Moldavsky M., Szvalb S., Zusman I. Secretory component, J-chain and immunoglobulins in human embryos and fetuses of the first trimester of gestation: an immunohistochemical study. *Ped. Dev. Pathol.* 2002, 6; 35-42
 - 112 Gurevich P., Elhayany A., Ben-Hur H., Moldavsky M., Szvalb S., Zandbank J., Schneider D.F., Zusman I. Secretory component, J-chain and immunoglobulins in human embryos and fetuses of the first trimester of pregnancy: immunohistochemical study. *Ped. Dev. Pathol.* 2003A, 6; 36-42
 - 113 Gurevich P., Zusman I., Moldavsky M., Szvalb S., Elhayany A., Halperin R., Gurevich E. and Ben-Hur H. Secretory immune system in human intrauterine development: immunopathomorphological analysis of the role of secretory component (pIgR/SC) in immunoglobulin transport. (A review). *Intern. J. Mol. Med.*, 2003B, 12; 289-297
 - 114 Gurevich P., Elhayany A., Ben-Hur H., Moldavsky M., Szvalb S., Zandbank J., Shperling I., Zusman I. An immunohistochemical study of the secretory immune system in human fetal membranes and deciduas of the first trimester of pregnancy. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 2003C, 50; 13-19
 - 115 Gurevich P., Elhayany A., Milovanov A., Halperin R., Kaganovsky E., Zusman I., Ben-Hur H. The placental barrier in allogenic immune conflict in spontaneous early abortions: immunohistochemical and morphological study. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2007, 58; 460-467
 - 116 Haigh T., Chen C., Jones C.J., Alpin J.D. Studies of mesenchymal cells from 1 st trimester human placenta expression of cytokeratin outside the trophoblast lineage. *Placenta*, 1991, 201; 615-625
 - 117 Halperin R., Elhayany A., Ben-Hur H., Gurevich P., Kaganovsky E., Zusman I., Shinnay N., Hadas E. Patomorphological and immunohistochemical study on the devastation of rat embryos by antiphospholipid antibody positive serum. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2008, 66; 523-528
 - 118 Ham A.W., Cormack D.H. *Histology*. 8-th edit., Lippincott Co., Philadelphia, 1983
 - 119 Hammer A., Blaschitz A., Daxbock G., Walcher W., Dohr G. Fas and FasLigand are expressed in the uteroplacental unit of first trimester pregnancy. *Am. J. Reprod. Immunol.* 1999, 41; 41-51
 - 120 Hammer A., Dohr G. Apoptosis nuclei within the the uterine deciduas of first trimester pregnancy arise from CD45 positive leucocytes. *Am. J. Reprod. Immunol.* 1999, 42; 88-94
 - 121 Han P., Hodge G. Intracellular cytokine production and cytokine receptor interaction of cord mononuclear cells: relevance to cord blood transplantation. *Brit. J. Haematology* 1999, 107; 450-456

- 122 Hara N., Fujii T., Kozuma S., Okai T., Taketani Y. Altered expression of human leucocyte antigen G (HLA-G) on extravillous trophoblasts in preeclampsia: immunohistological demonstration with anti-HLA-G specific antibody "876" and anti-cytokeratin antibody CAM 5.2. *Am. Reproduct. Immunol.* 1996, 36; 349-358
- 123 Hardy R.R., Wasserman R., Li Y.S., Shinton S.A., Hayakawa K. Response by B-cell precursor to pre-B receptor assembly: differences between fetal liver and bone marrow. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2000, 25; 225-231
- 124 Hargreave T.B., Mills J.A. Investigation and managing infertility in general practice. *British Med. J.* 1998, 316; 1438-1441
- 125 Harrell G., Murray P. Diagnosis and management of congenital hypothyroidism, *J. Prenat. Neonat. Nursing*, 1998; 11, 75-79
- 126 Hebra A., Strange P., Egbert J.M., Ali M., Mullinax A., Buchanan E. Intracellular and extracellular cytoline production by human mixed mononuclear cells in response to group B streptococci. *J. Invest. Immunol.* 2001, 36; 1321-1325
- 127 Hendrickson B.A., Conner D.A., Ladd D.J., Kendall D., Casanova J.E., Cortes B., Max E.E., Neutra M.R., Seidman E., Seidman J.G. Altered hepatic transport of immunoglobulin A in mice lacking the J-chain. *J. Exp. Med.*, 1995, 182; 1905-1909
- 128 Hershko C. The rate of circulating haemoglobins. *Br. J. Haematol.* 1975, 29; 199-207
- 129 Hess M.W. Morphologie der immuneantwort. *Schweiz. Med. Wochenschr.* 1989, 119; 1752-1753
- 130 Hirsfeld Z., Zborovski H. Über die Grundlagen des serologischen Zusammenlebens zwischen Mutter und Frucht. *Klinische Wochenschrift*, 1926, 5; 741-754
- 131 Huleihel M., Lunenfeld E. Regulation of spermatogenesis by paracrine/autocrine testicular factors. *Asian J. Androl.*, 2004, 6; 259-265
- 132 Hunt J.S., Petroff M.G., McIntire R.H., Ober C., HLA-G and immune tolerance in pregnancy. *FASEB J.* 2005, 19; 681-687
- 133 Huppertz B., Frank H.G., Kaufmann P. Apoptosis cascade – morphological and immunohistochemical methods for its visualization. *Anat. Embryol. (Berlin)*, 1999, 200; 1-18
- 134 Huppertz B., Kingdom J.C., Apoptosis in the trophoblast – role of apoptosis in placental morphogenesis. *J. Soc. Gynecol. Investig.*, 2004, 11; 353-358
- 135 Huppertz B., Hemmings D., Renaud S.J., Bulmer J.N., Dash P., Chamley L.W. Extravillous trophoblast apoptosis. A workshop report. *Placenta*, 2005, 26; S46-S48
- 136 Hviid T.V., Melojaard M., Sorenson S., Morling N. Polymorphism of exon 3 of the HLA-6 gene. *J. Reprod. Immunol.* 1997, 35; 31-42
- 137 Israel E.J., Simister N., Freiberg E., Caplan A., Walker W.A. Immunoglobulin G binding sites on the human fetal intestine: a possible mechanism for the passive transfer of immunity from mother to infant. *Immunology*, 1993, 79; 77-81
- 138 Jamashita N., Fuyii N., Watanabe Y., Tokunaga K., Tadokoro K., Taketani Y. HLA-G gene polymorphism in a Japanese population. *Immunogenetics*, 1996, 44; 186-191
- 139 Jauniaux E., Jurkovic D., Gulbis B., Liesnard C., Lees C., Campbell S. Materno-fetal immunoglobulin transfer and passive immunity during the first trimester of human pregnancy. *Hum. Reprod.* 1995, 10; 3297-3300

- 140 Jerzak M., Bischof P. Apoptosis in the first trimester human placenta: the role in maintaining immune privilege at the maternal – fetal interface and in the trophoblast remodeling. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 2002, 100; 138-142
- 141 Johansen F.E., Braathen R., Brandtzaeg P. Role of J-chain in secretory immunoglobulin formation. *Scand. J. Immunol.*, 2000, 52; 240-246
- 142 Johansen F.E., Braathen R., Brandtzaeg P. The J-chain is essential for polymeric Ig-receptor-mediated epithelial transport of IgA. *J. Immunol.* 2001, 167; 5185-5192
- 143 Jurisicova A., Casper R.F., MacLusky N.J., Librach L.L. Embryonic human leucocyte antigen-G expression: possible implication for human preimplantation development. *Fertil. Steril.* 1996, 65; 997-1002
- 144 Kahlon J. Whitley R.J. Antibody response of the newborn after herpes simplex infection. *J. Infect. Dis.*, 1988, 158; 925-929
- 145 Kapasi K., Albert S.E., Yie S., Zavazava N., Librachi C.L. HLA-G has a concentration-dependent effect on the generation of an allo-CTL response. *Immunology*, 2000, 101; 191-198
- 146 Kang S.M., Braat D., Schneider D.B., O'Rourke R.W., Lin Z., Ascher N.L., Dichek D.A., Baekkeskov S., Stock P.G. A non-cleavable mutant of Fas Ligand does not prevent neutrophilic destruction of islet transplants. *Transplantation* 2000, 69; 1813-1819
- 147 Kapur P., Rakheja D., Gomez A.M., Sheffield J., Sanchez P., Rogers B.B. Characterization of inflammation in syphilitic villitis and in villitis of unknown etiology. *Pediatr. Dev. Pathol.* 2004, 7; 453-458
- 148 Karas S.P., Rosse W.F., Kurlander R.J. Characterization of the IgG-Fc receptor on human platelets, *Blood*, 1982, 60, 1277-1282
- 149 Kerr J.E., Wyllie A.H., Currie A.R. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br. J. Cancer*, 1972, 26; 239-257
- 150 Kirsten D. The thyroid gland: physiology and pathophysiology, *J. Neonatal. Nursing*, 2000, 19; 11-26
- 151 Kokawa K., Shikone T., Nakano R. Apoptosis in human chorionic villi and decidua during normal embryonic development and spontaneous abortion in the first trimester. *Placenta*, 1998, 19; 21-26
- 152 Kovats S., Main E.K., Librach C., Stubblevine M., Fisher S.J., DeMars R. A Class I antigen, HLA-G, expressed in human trophoblasts. *Science*, 1990, 248; 220-223
- 153 Kristoffersen E.K., Ulvestad E., Vedeler C.A., Matre R. Fc gamma receptor heterogeneity in human placenta. *Scand. J. Immunol.* 1990, 32; 561-564
- 154 Kumpel B.M. On the immunologic basis of Rh immune globulin (anti-D) prophylaxis. *Transfusion*, 2006, 46; 1652-1656
- 155 Kurman R.J. (edit). *Blaustein's pathology of the female genital tract*. Fourth ed. Springer-Verlag, New-York, 1995
- 156 Kutteh W.H. Mucosal immunity in the human female reproductive tract. In: *Mucosal Immunology*, P.L.Ogra, M.E.Lamm, J.R.McGhee, J.Mestecky, W.Strober, J.Bienenstock (eds.), 2 ed., Academic Press, San Diego, 1999, 1423-1434
- 157 Kutteh W.H., Recurrent pregnancy loss: an update. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* 1999, 11; 435-439
- 158 Kwak D.J., Augustine N.H., Borgel W.G., Joyner J.L., Green W.E., Hill H.R. Intracellular and extracellular cytokine production by human mixed mononuclear cells in response to group B streptococci. *Infect. Immunol.*, 2000, 68; 320-327
- 159 Labastie M.C., Cortes F., Romeo P.H., Dulac C., Peault B. Molecular identity of hemopoietic precursors cell emerging in the human embryo. *Blood*, 1998, 92; 3634

- 160 Laird S.M., Tuckerman E.M., Cork B.A., Linjawi S., Blakenmore A.I., Li T.S. A review of immune cells and molecules in women with recurrent miscarriage. *Hum. Reprod. Update*, 2003, 9; 163-174
- 161 Landenberg P.von, Matthias T, Zaech J., Schultz M, Lorber M, Blank M., Shoenfeld Y. Antiprotrombin antibodies are associated with pregnancy loss in patients with the antiphospholipid syndrome. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2003, 49; 51-56
- 162 Lazarus J., Thyroid disorders associated with pregnancy etiology, diagnosis and management. *Treat. Endocrinol.* 2005, 4; 31-35
- 163 Le Bouteiller P.L., Solier C., Proll J., Aquerre-Girr M., Fournel S., Lenfant F. Placental HLA-G protein expression in vivo where and what for? *Hum. Reprod. Update*, 1999, 5; 223-233
- 164 Levi A.J. Anticoagulant therapy and pregnancy. *Infertility treatment, Reproductive Medicine and Biology*, 2008, 7; 1-10
- 165 Levi R., Nelson D.M. To be or not to be, that is the question. Apoptosis in human trophoblast. *Placenta*, 2000, 21; 1-13
- 166 Levine Ph., Stetson E. An unusual cause of intra-group agglutination. *JAMA*, 1939, 113; 126-127
- 167 Levine Ph., Burnham L., Katzin E., Vogel P. The role of isoimmunisation in the pathogenesis of erythroblastosis fetalis. *Amer. J. Obst. Gynec.* 1941, 42; 925-937
- 168 Levine Ph. The pathogenesis of erythroblastosis fetalis. *J. Pediatrics.* 1944, 23; 656-675
- 169 Levine Ph. The mechanism of transplacental isoimmunisation. *Blood*, 1948, 3; 404-413
- 170 Levy R., Smith S.D., Yusif K., Huettner P.C., Kraus F.T., Sadovsky Y., Nelson D.M. Trophoblast apoptosis from pregnancies complicated by fetal growth restriction is associated with enhanced p53 expression. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2002, 186; 1056-1061
- 171 Li T.S., Spuijbroek M.D., Tuckerman E., Anstie B., Loxley M., Liard S. Endocrinological and endometrial factors in recurrent miscarriage *Br. J. Obstet. Gynecol.* 2000, 107; 1471-1479
- 172 Lichnovsky V., Kolar Z., Tanber Z., Bocek M. Expression of bcl-2 protein in tissues and organs of the human embryo. *Acta Univ. Palacki Olomic Fac. Med.* 1996, 140; 39-42
- 173 Lichnovsky V., Kolar Z., Murray P., Hlobilkova A., Chernochova D., Pospisilova E., Vojtesek B., Nenutil R. Differences in p53 and bcl-2 expression in relation to cell proliferation during the development of human embryos. *Mol. Pathol.*, 1998, 51; 131-137
- 174 Loke Y.W., King A. Immunology of human placental implantation; clinical implications of current understanding. *Mol. Med. Today*, 1997, 3; 153-159
- 175 Madani G., Heiner D.C. Antibody transmission from a mother to fetus. *Curr. Opin. Immunol.*, 1989, 1; 1157-1162
- 176 Majno G., Joris I. Apoptosis, oncosis and necrosis. An overview of cell death. *Am. J. Pathol.*, 1995, 146; 3-15
- 177 Malek A., Sajer P., Kuhn P., Nicolaides K.H., Schneider H. Evolution maternofetal transport of immunoglobulins during pregnancy. *Am.J. Reprod. Immunol.* 1996, 36; 248-255
- 178 Mandisodza A.R., Mangoyi G., Musekiwa Z., Mvere D., Abayomi A. Incidence of haemolytic disease of the newborn in Harare, Zimbabwe. *West Afr. J. Med.* 2008, 27; 29-31

- 179 MasCasullo V., Fam E., Keller M.J., Herold B.C. Role of mucosal immunity in preventing genital herpes infection. *Viral Immunol.* 2005, 18; 595-601
- 180 Mayhew T.M., Barker B.L. Villous trophoblast: morphometric perspectives on growth, differentiation, turnover and deposition of fibrin-type fibrinoid during gestation. *Placenta*, 2001, 22; 628-638
- 181 Mayhew T.M., Bowel C., Yucel F. Hypobaric hypoxia and villous trophoblast: evidence that human pregnancy at high altitude (3600 m) perturbs epithelial turnover and coagulation-fibrinolysis in the intervillous space. *Placenta*, 2002, 23; 154-162
- 182 Mayhew T.M., Brotherton L., Holliday E., Orme G., Bush P.G. Fibrin-type fibrinoid in placental from pregnancies associated with maternal smoking: association with villous trophoblast and impact on intervillous porosity. *Placenta*, 2003A, 24; 501-509
- 183 Mayhew T.M., Sampson C. Maternal diabetes mellitus is associated with altered deposition of fibrin-type fibrinoid at the villous surface in term placental. *Placenta*, 2003B, 24; 524-531
- 184 Mazanec M.B., Kaetzel C.S., Lamm M.E., Fletcher D. Intracellular neutralization of virus by immunoglobulin A antibodies. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1992, 89; 6901-6902
- 185 Mazur M.T., Kurman R.J. Gestational trophoblastic disease and related lesions. In: Blaunstein's pathology of the female genital tract. edit. R.J.Kurman, 1995, 1049-1093
- 186 McAdams R.M., Dotzler S.A., Winter L.W., Kerecman J.D. Severe hemolytic disease of the newborn from anti-e. *J. Perinatol.*, 2008, 28; 230-232
- 187 McGhee J.R., Kiyono H. Mucosal immune system. In: *Fundamental Immunology*, W.E. Paul (ed.), Lippincott-Raven Publ. Philadelphia, 1999, 909
- 188 McMaster M., Librach C.L., Zhou Y., Lim K.H., Janatpous M.J. et al., Human placental HLA-G expression is restricted to differentiated cytotrophoblasts. *J. Immunol.*, 1995, 154; 3771-3778
- 189 McNamara J.G. Immunology of the Fetus. In: Reece E.A., Hobbins J.C., Mahoney M.J., Petrie R., eds. *Medicine of the Fetus and Mother*, N-Y., Lippincott, 1992, 143-154
- 190 Medavar P. Some immunological and endocrinological problems raised by the evolution of viviparity in vertebrates. *Symp. Soc. Exp. Biol.*, 1954, 7; 320-328
- 191 Melchers F., Rolink A. B-lymphocytes development and biology In: *Fundamental Immunology*, W.E. Paul (edit). 4-th ed. Lippincott – Raven, Philadelphia, 1999, 183
- 192 Mestecky J., Fultz P.N. Mucosal immune system of the human genital tract. *J. Infect. Dis.*, 1999, 179, Suppl.3; S470
- 193 Mestecky J., Bienenstock J., McGhie J.R., Lamm M.E., Strober W., Cebra J.J., Mayer L., Ogra P.L. Historical aspect of mucosal immunity. J.Mestecky, J.Bienenstick, M.E. Lamm et al. (edits) *Mucosal immunity*. 3-rd. edition, Elsevier Amsterdam Press. Amsterdam, 2005
- 194 Milchev N., Batashki I., Staribratova D., Zaprianov Z. Trophoblast expression on EGFR (epidermal growth factor receptor) in the preeclampsia placenta. *Akush. Ginecol. (Sofia)* 2006, 45, 21-24
- 195 Moore K.L. The development human – clinically oriented embryology. Fourth edit., Philadelphia, Saunders Co, 1988
- 196 Mor G., Abrahams V.M. Potential role of macrophages as immunoregulators of pregnancy. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2003, 1; 119-133

- 197 Morton H., Early pregnancy factor: an extracellular chaperonin 10 homologue. *Immunol. Cell. Biol.*, 1998, 76; 483-487
- 198 Nagura N., Brandtzaeg P., Nakane P.K. Brown W.R. Ultrastructural localization of J-chain in human intestinal mucosa. *J. Immunol.*, 1979, 123; 1044-1050
- 199 Navarro F., Leano M., Bellou T., Colonna M., Geraghty D.E., Lopez-Botet M. The ILT2(LIRI) and CD94/NKG2A NK cell receptors respectively recognize HLA-G1 and HLA-E molecules co-expressed on target cells. *Eur. J. Immunol.* 1999, 29; 277-283
- 200 Norderhaug I.N., Johansen F.E., Schjerven H., Brandtzaeg P. Regulation of the formation and external transport of secretory immunoglobulins. *Crit. Rev. Immunol.*, 1999, 19; 481-494
- 201 Niederkorn J.Y., Wang S.S. Immune privilege of the eye and fetus: parallel universes? *Transplantation*, 2005, 80; 1139-1146
- 202 North R.J., Convan J.W. Murine listeriosis as a model of cellular immunity to infection. In: *Immunology of intracellular parasitism*. Foo Y.L., Franc E.G. (eds), Carger, Basel, 1998, vol. 70
- 203 Nuang D.S., Emancipator S.N., Fletcher D.S., Lamm M.E., Mazanec M.B. Hepatic pathology resulting from mouse hepatitis virus in infection in severe combined immunodeficiency mice. *Lab. Anim. Sci.* 1996, 46; 167-173
- 204 Oh E.J., Jekarl D.W., Jang H.S., Park H.J., Park Y.I., Choi H.A., Chun C.S., Kim Y., Kim H. Severe hemolytic disease of the newborn due to anti-Di treated with phototherapy and intravenous immunoglobulin. *Ann. Clin. Lab. Sci.*, 2008, 38; 80-82
- 205 Ohshima K., Nakashima M., Sonoda K., Kikuchi M., Watanabe T. Expression of RCAS1 and FASL in human trophoblasts and uterine glands during pregnancy: the possible role in immune privilege. *Clin. Exp. Immunol.* 2001, 123; 481-486
- 206 Orht J. Uber das Vorkommen von biliar binkrystallen bei neugeborenen eindern. *Virchowis Archiv fur pathologische Anatomic und Physiologie*, 1875, 63; 3/4, 447-462
- 207 Osiander F., *Lehrbuch der hebammekunst*, 1796, quotation from Martius G., *Die pathogenese des morbus haemolyticus neonatorum*, Stuttgart, 1956
- 208 Out H.I., Bruinse H.W., Christiaens G.C., Van Vliet M., Meilof J.F., de Groot P.G., Smeenk R.J., Derksen R. Prevalence of antiphospholipid antibodies in patients with fetal loss. *Ann. Rheum. Dis.* 1991, 50; 553-557
- 209 Parham R. NK cells and trophoblasts: partners in pregnancy. *JEM*, 2004, 200; 951-959
- 210 Peppard J.V., Russell M.W. Phylogenetic development and comparative physiology of IgA. In: *Mucosal Immunology*, P.L.Ogra, J.Mestecky, M.E. Lamm, W.Strober, J.Bienenstock, J.R. McGhee (eds.), Acad. Press, San Diego, 1999, 163
- 211 Perni S.C., Predoni C.M., Cho J.F., Baergen R.N. Placental pathology and pregnancy outcomes in donor and non donor ovocyte in vitro fertilization pregnancies. *J. Perinat. Med.* 2005, 33; 27-32
- 212 Piccini M.P., Gindizi M.G., Biagiotti R., et al., Progesterone favours - the development of human T-helper cells producing Th2-type cytokines and promotes both IL-4 production and membrane CD30 expression in established Th1 cell clones. *J.Immunol.*1995, 155; 128-135
- 213 Platter F., 1614, quotation from H.Dost, *Pediatriche aspekte boim morbus haemolyticus neonatorum*. *Aktuell probleme des morbus haemololyticus neonatorum*. Stuttgart 1963, 18-41

- 214 Pollock J.M., Boumen J. Anti-Rh(D) IgG subclasses and severity of Rh hemolytic disease of the newborn. *Vox Sanguines*, 1990, 59; 176-181
- 215 Rango von V., Krusche C.A., Kertschanska S., Alter J., Kaufmann P., Beier H.M. Apoptosis extravillous trophoblast cells limits the trophoblast invasion in uterine but not in tubal pregnancy during first trimester. *Placenta*, 2003, 24; 929-940
- 216 Red-Horse K., Zhou Y., Genbacev O., Prakobphol A., Foulk R., McMaster M., Fisher S.J. Trophoblast differentiation during embryo implantation and formation of the maternal-fetal interface. *J. Clin. Invest.* 2004, 114; 744-751
- 217 Reister F., Heyl W., Kaufmann P., Rath W. Trophoblasts in vasion in pre-eclampsia. *Zentralbl. Gynecol.* 1999, 121; 587-595
- 218 Reister F., Frank H.G., Kingdom J.G., Heyl W., Kaufmann P., Rath W., Huppertz B. Macrophage induced apoptosis limits endovascular trophoblast invasion in the uterine wall of pre-eclamptic women. *Lab. Invest.* 2001, 81; 1143-1152
- 219 Rich T., Watson Ch.J., Wylli A. Apoptosis: the germ of death. *Nature Cell Biol.* 1999, 1; E64-E71
- 220 Risau W. Molecular biology of blood-brain barrier ontogenesis and function. *Acta Neurochir. Suppl.* 1994; 60, 109-112
- 221 Robboy S.J., Bernhardt P.F., Parmley T. Embryology of the female genital tract and disorders of abnormal sexual development in: Blaustein's pathology of the female genital tract, edit R.J.Kurman Springer Verlag, 5 edits., 2002, 3-29
- 222 Robinson S.H. Introduction to the hemolytic anemias: heme catabolism. In Robinson S.H., Reich P.R. eds. *Hematology, Pathophysiological Basis for Clinical Practice*. 3-d ed. Boston. Little Brown Co, 1993, 127-144
- 223 Rouas-Freiss N., Marchal R.E., Kirszenbaum M., Dausset J., Carosella E.D. The alpha-1 domain of HLA-G1 and HLA-G2ibits cytotoxicity induced by natural killer cell inhibitory receptors? *Proc.Natl.Acad.Sci. USA*, 1997, 94; 5249-5254
- 224 Saito S. Cytokine network at the feto-maternal interface. *J. Reproduct. Immunol.* 2000, 47; 87-96
- 225 Sadler T.W. *Langman's medical embryology*. Baltimore, Williams, Wilkins, 1995
- 226 Sargent I.L., The placenta and recurrent early pregnancy loss. In: *The human placenta. A guide for clinicians and scientists*, CWG Redman, I.L.Sargent, P.M.Starkey (edits), 1993, Blackwell Scient. Publ., Oxford, pp.414-431
- 227 Sargent I.L., Borzychowski A.M., Redman C.W. Immunoregulation in normal pregnancy and pre-eclampsia: an overview. *Reprod. Biomed. Online*, 2006; 13; 680-685
- 228 Schmorl G. Zur kenntnis des icterus neonatorum insbesondere der dabei auftreten den Gehirnveränderungen. *Verhandl. Deutsche. Ges für Pathol.*, 1904, 6; 109
- 229 Schridde H. Die angeborene allgemaine wassersucht. *Munch. Modern wochenschrift.*, 1910, 8; 397-398
- 230 Sgarbosa F., Barbisan L.F., Brasil M.A., Costa E., Calderon I.M., Goncalves C.R., Bevilacqua E., Rudge M.V. Changes in apoptosis and bcl-2 expression in human hyperglycemic term placental trophoblast. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2006, 73; 143-149
- 231 Sher G., Zouves C., Feinman M. et al., A rational basis for the use of combined heparin/aspirin and IVIG immunotherapy in the treatment of recurrent IVF failure associated with antiphospholipid antibodies. *Am. J. Reprod. Immunol.* 1998, 39; 391-394
- 232 Shoenfeld Y., Carp H.J., Molina V., Blank M., Cervera R., Balasch J., Tincani A., Faden D., Lojacono A., Doria A., Konova E., Meroni P.L. Autoantibodies and prediction of reproductive failure. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 2006, 56; 337-342

- 233 Simada S-I, Kawaguchi-Miyashita M., Kushiro A., Soto T., Nauno M., Sako T., Matsuoka Y., Sudo K., Tagawa Y-J., Iwakura Y., Ohwaki M. Generation of polymeric immunoglobulin receptor-deficient mouse with marked reduction of secretory IgA. *J. Immunol.*, 1999, 163; 5367-5373
- 234 Simister N.E., Story C.M., Chen H.-L., Hunt J.S., An IgG transporting Fc receptor expressed in the syncytiotrophoblast of human placenta. *Eur. J. Immunol.* 1996, 26; 1527-1531
- 235 Simister N.E., Story C.M. Human placental Fc receptors and the transmission of antibodies from mother to fetus. *J. Reprod. Immunol.* 1997, 37; 1-23
- 236 Simister N.E. Human placental Fc receptors and the trapping of immune complexes. *Vaccine*, 1998, 16; 1451-1455
- 237 Simister N.E. Placental transport of immunoglobulin G. *Vaccine*, 2003, 21; 3365-3369
- 238 Simpson E. Why the baby isn't thrown out. *Curr. Biol.*, 1996, 6; 43-44
- 239 Slukvin I.I., Brebuzda E.E., Golos T.G. Dynamic changes in primate and ometrial leucocytes populations: differential distribution of macrophages and natural killer cells at the rhesus monkey implantation site and early pregnancy. *Placenta*, 2004, 25; 297-307
- 240 Smith S.C., Baker P.N., Symonds E.M. Placental apoptosis in normal human pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1997, 177; 57-65
- 241 Spangelo B.L., Gorospe W.G. Role of the cytokines in the neuro-endocrine-immune system axis. *Front. Neuroendocrinol.* 1995, 16; 1-9
- 242 Stanton B.A., Koeppen B.M. Renal system. In Berne R.M., Levy M.N., eds, *Principles of Physiology.*, St.Louis, Mosby, 1990, 416-477
- 243 Stein K.K., Primakoff P., Myles D. Sperm-egg fusion: events at the plasmamembrane. *J. Cell. Sci.*, 2004, 117 (pt 26); 6269
- 244 Stern J.E., Dixon P.M., Momganiello P.D., Brinck-Johansen T. Antisperm antibodies in women: variability levels in serum mucus and peritoneal fluid. *Fertility and sterility*, 1992A, 58;950-958
- 245 Stern J.E., Gardner S., Quirk D., Wira C.R. Secretory immune system of the male reproductive tract: effects of dihydrotestosterone and estradiol on IgA and secretory component levels. *J. Reprod. Immunol.* 1992B, 22; 73-85
- 246 Streilein J.W. Ultravelling immune privilege. *Science*, 1995, 270; 1158-1159
- 247 Streilein J.W., Wegmann T.G., Immunologic privilege in the eye and fetus. *Immunol. Today*, 1987, 8; 362-366
- 248 Sudler T.W. *Langman's medical embryology*, 7 edit, Williams and Wilkins, Baltimore, 1995
- 249 Sun C.C., Revell V.O., Belli A.J., Viscardi R.M. Discrepancy in pathologic diagnosis of placental lesions. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 2002, 126; 706-709
- 250 Suzuki T., Sasano H., Takaya R., Fukaya T., Yajima A., Date F., Nagura H. Leucocytes in normal-cycling human ovaries: immunohistochemical distribution and characterization. *Hum. Reproduct.* 1998, 13; 2186
- 251 Svensson A.M., Waters B.L., Laszik Z.G., Simmons-Arnold I., Goodwin A., Beatty B.G., Bovill E.G. The protein C system in placental massive perivillous fibrin deposition. *Blood Coagul. Fibrinolysis*, 2004, 15; 491-495
- 252 Sverremark Exstrom E., Nilsson C., Holmlung U., Vander Ploeg J., Standstedt B., Lilja G., Scheynius A. IgE is expressed on, but not produced by fetal cells in the human placenta irrespective of maternal atopy. *Clin. Exp. Immunol.* 2002, 127; 274-282

- 253 Tafuri A., Alferink J., Muller P., Hammerling G.J., Arnold B. T-cells awareness of paternal allo-antigens during pregnancy. *Science*, 1995, 270; 1158-1159
- 254 Takahashi T., Iwase T., Takenouchi N., Sato M., Kobayashi K., Moldoveanu Z., Mestecky J., Moro. The joining (J) chain is present in invertebrates that do not express immunoglobulins, *Pros.Natl. Acad. Sci. USA*, 1996, 93; 1886-1891
- 255 Tamaki J., Arimura Y., Koda T., Fujimoto T., Wakilaka A., Kakinuma M. Heterogeneity of HLA-G genes identified by polymerase chain reaction single strand conformational polymorphism (PCR/SSCR). *Microbiol. Immunol.* 1993, 37; 633-640
- 256 Taylor C.T., Johnson P.M. Complement-binding proteins are strongly expressed by human preimplantation blastocysts and cumulus cells as well as gametes. *Mol. Hum. Reprod.*, 1996, 2; 52-57
- 257 Thomas M.L., Harger J.H., Wagener D.K., Rabin B.C., Gill III T.J. HLA sharing and spontaneous abortion in human. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1985, 151; 1053-1058
- 258 Todt J.C., Yang Y., Lei J., Lauria M.R., Sorokin Y., Cotton D.B., et al., Effect of tumor necrosis factor alpha on human trophoblast cell adhesion and mortality. *Amer. J. Reprod. Immunol.*, 1996, 36; 65-71
- 259 Uchide N., Ohyama K., Bessho T., Toyoda N. Induction of pro-inflammatory cytokine gene expression and apoptosis in human chorion cells of fetal membranes by influenza virus infection: possible implications for maintenance and interruption of pregnancy during infection. *Med. Sci. Monit.*, 2005, 11; RA7-16
- 260 Vacchio M.S., Hodes R.J. Fetal expression of FasLigand is necessary and sufficient for induction of CD8 T-cell tolerance to the fetal antigen H-Y during pregnancy. *J. Immunol.* 2005, 174; 4657-4663
- 261 Vaquero E., Lazzarin N., Valensise H., et al., Pregnancy outcome in recurrent spontaneous abortion associated with antiphospholipid antibodies: a comparative study of intravenous immunoglobulin versus prednisone plus low-dose aspirin. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2001, 45; 174-179
- 262 Vest G.M. Bilirubinstoffwechsel beim feten und neugeborenen. Aktuelle probleme des morbus haemolyticus neonatorum. *Stuttgart*, 1963, 1-17
- 263 Vetro S.W., Bellanti G.A. Fetal and neonatal immunoincompetence. *Fetal Ther.* 1989, 4 (1 suppl); 82-91
- 264 Viero S., Chaddha V., Alkazaleh F., Simchen M.J., Malic A., Kelly E., Windrim R., Kingdom J.C.P. Prognostic value of placental ultrasound in pregnancies complicated by absent enddiastolic flow velocity in the umbilical arteries. *Placenta*, 2004, 25; 735-741
- 265 Vogt Isaksen C. Maternal smoking, intrauterine growth restriction and placental apoptosis. *Pediatr. Dev. Pathol.* 2004, 7; 433-442
- 266 Weetman A.P. The immunology of pregnancy. *Thyroid*, 1999, 9; 643-651
- 267 Wenstrom K.D., Andrews W.W., Bowles N.E., Towbin J.D., Hauth J.C., Goldenberg R.L. Intrauterine viral infection at the time of second trimester genetic amniocentesis. *Br. J. Obstet. Gynec.*, 1998, 92; 420
- 268 White H.D., Yeaman G.R., Givan A.L., Wira C.R. Mucosal immunity in the human female reproductive tract: cytotoxic T-lymphocytes function in the cervix and vagina of premenopausal and postmenopausal women. *Am. J. Reprod. Immunol.* 1997, 37; 30-35
- 269 Whittle M.J. Rhesus haemolytic disease. *Arch. Dis. Childhood*, 1992, 61; 65-71
- 270 Wiener A. The patogenesis of the haemolytic disease of newborn. *Proceedings of the society for experimental biology and medicine*, 1946, 61, 4; 390-391

- 271 Wilcox A.J., Weinberg C.R., O'Connor J.F., Baird D.D., Schetterer J., Canfield R.E., Armstrong E.G., Nisula B.C. Incidence of early loss of pregnancy. *New Engl. J. Med.*, 1988, 319; 189-194
- 272 Win N., Needs M., Tillyer L. Management of pregnancy complicated by anti-hrB-anti-HrB. *Immunohematology*, 2007, 23; 143-145
- 273 Wintrobe M.M., Lee G.R., Boggs D.R., Bithell T.C., Foester I., Athens I.W. *Clinical Haematology*, Philadelphia, Lea and Febiger, 1981, 170-178, 734-748
- 274 Wixom R.L., Prutkin L., Mungo H., Hemosiderin: nature, formation and significance. *Int. Rev. Exp. Pathol.* 1980, 22; 193
- 275 Yan H., Lamm M.E., Bjorling E., Huang Y.T. Multiple functions of immunoglobulin A in mucosal defense against viruses: an in vitro measles virus model. *J. virul.* 2002, 76; 10972-10976
- 276 Yui J., Hemmings D., Garcia-Lloret M., Guilbert L.J. Expression of the human p55 and p75 tumor necrosis factor receptors in primary villous trophoblasts and their role in cytotoxic signal transduction. *Biol. Reprod.*, 1996, 55; 400-409
- 277 Zupanska B., Nowaczek-Migas M., Michalewska B., Wielgos M., Orzinska A. Anti-K antibodies in pregnant women and genotyping of K antigen in fetuses. *Ginek. Pol.*, 2008, 79; 410-414

